

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047335**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2024.07.05

(21) Номер заявки

202090104

(22) Дата подачи заявки

2018.06.21

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)*A61K 39/40* (2006.01)*C07K 16/28* (2006.01)*A61K 31/495* (2006.01)*A61K 39/00* (2006.01)(54) **МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛ К CD73 И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) 62/523,481; 62/636,510

(32) 2017.06.22; 2018.02.28

(33) US

(43) 2020.04.09

(86) PCT/US2018/038775

(87) WO 2018/237157 2018.12.27

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

НОВАРТИС АГ (СН); СЕРФЕЙС**ОНКОЛОДЖИ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Брок Ангар, Кремаско Вивiana,
Сабатос-Пейтон Кэтрин Энн,
Дранофф Гленн, Принц Бьянка, Томас
Джерри М., Чепел Скотт, Лэйк
Эндрю, Патерсон Элисон, О'Коннор
Рейчел В., Уоррен Майкл, Холланд
Памела, Субраманиан Куландайан
Каси, Фьеллског Мари-Луиз, Бюссьер
Дирксен, Волдегиоргис Микиас,
Шу Вэй, Венэйбл III Джон Дельма,
Глэдстоун Майкл, Хилл Джонатан,
Миллер Кристин (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2016075099

WO-A1-2016185016

WO-A1-2016131950

WO-A2-2016081748

WO-A1-2016055609

M.G. TERP ET AL. "Anti-Human CD73 Monoclonal Antibody Inhibits Metastasis Formation in Human Breast Cancer by Inducing Clustering and Internalization of CD73 Expressed on the Surface of Cancer Cells", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 191, no. 8, 15 October 2013 (2013-10-15), pages 4165-4173, XP055245511, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.1301274, abstract

JAMES C. GEOGHEGAN ET AL. "Inhibition of CD73 AMP hydrolysis by a therapeutic antibody with a dual, non-competitive mechanism of action", MABS, vol. 8, no. 3, 8 February 2016 (2016-02-08), pages 454-467, XP055266812, US ISSN: 1942-0862, DOI: 10.1080/19420862.2016.1143182, abstract

JOHN D. VENABLE ET AL. "Isotope-Coded Labeling for Accelerated Protein Interaction Profiling Using MS", ANALYTICAL CHEMISTRY, vol. 87, no. 15, 22 July 2015 (2015-07-22), pages 7540-7544, XP55520749, US ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/acs.analchem.5b01410

(57) Изобретение относится к молекулам антител, которые связываются с CD73 человека. Также раскрыты комбинация указанных молекул антител к CD73, фармацевтическая композиция, содержащая указанную молекулу антитела, нуклеиновые кислоты, кодирующие вариабельные области указанных молекул антител, вектор, клетка-хозяин, способ получения молекулы антитела, которая связывается с CD73 человека, применение молекулы антитела или фармацевтической композиции для производства лекарственного средства для стимуляции иммунного ответа у субъекта или для производства лекарственного средства для лечения рака у субъекта, а также способ обнаружения CD73 в биологическом образце или в субъекте.

B1**047335****047335 B1**

Родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет по заявке на патент США с порядковым № 62/523481, поданной 22 июня 2017 года, и заявке на патент США с порядковым № 62/636510, поданной 28 февраля 2018 года, содержание которых тем самым включено посредством ссылки во всей своей полноте.

Перечень последовательностей

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Указанная копия в формате ASCII, созданная 15 июня 2018 года, имеет название N2067-7123WO_SL.txt и размер 497959 байтов.

Уровень техники

Кластер дифференцировки 73 (CD73), также известный как экто-5'-нуклеотидаза (экто-5'NT), представляет собой гликозил-фосфатидилинозитол (GPI)-связанный фермент клеточной поверхности, присутствующий в большинстве тканей и, в частности, экспрессируемый в эндотелиальных клетках и подгруппах гематопозитических клеток (Resta et al., *Immunol Rev* 161:95-109 (1998) и Colgan et al., *Prinerigic Signal* 2:351-60 (2006)). CD73 катализирует превращение аденозинмонофосфата (AMP) в аденозин. Аденозин является сигнальной молекулой, которая опосредует свои биологические эффекты с помощью нескольких рецепторов, в том числе рецепторов аденозина A1, A2A, A2B и A3. Рецептор A2A получил особое внимание из-за его обширной экспрессии на иммунных клетках. Аденозин характеризуется плейотропными эффектами в микроокружении опухоли, в том числе экспансией регуляторных Т-клеток (Tregs), ингибированием ответов эффекторных Т-клеток (Teff), опосредованных интерфероном (IFN)- γ , и экспансией супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC). См., например, Allard B, et al., *Curr Opin Pharmacol* 29:7-16 (2016) и Allard D, et al., *Immunotherapy* 8:145-163 (2016).

CD73 также экспрессируется на раковых клетках, в том числе в случае рака толстой кишки, легкого, поджелудочной железы, яичника, мочевого пузыря, в случае лейкоза, глиомы, глиобластомы, меланомы, рака щитовидной железы, пищевода, простаты и молочной железы (Jin et al., *Cancer Res* 70:2245-55 (2010)) и Stagg et al., *PNAS* 107: 1547-52 (2010); Zhang et al., *Cancer Res* 70:6407-11 (2010)). Сообщалось, что высокий уровень экспрессии CD73 коррелирует с неблагоприятным исходом при различных проявлениях рака, таких как рак легкого, меланома, трижды негативный рак молочной железы, плоскоклеточный рак головы и шеи и колоректальный рак. См., например, Allard B, et al., *Expert Opin Ther Targets* 18:863-881 (2014); Leclerc BG, et al., *Clin Cancer Res* 22:158-166 (2016); Ren ZH, et al., *Oncotarget* 7:61690-61702 (2016); Ren ZH, et al., *Oncol Lett* 12:556-562 (2016); и Turcotte M, et al., *Cancer Res* 75:4494-4503 (2015).

С учетом постоянной потребности в улучшенных стратегиях для нацеливания на заболевания, такие как рак, новые композиции и способы для регулирования активности CD73 и связанные с ними терапевтические средства являются весьма желательными.

Краткое описание

В данном документе раскрыты молекулы антител, которые связываются с CD73 (кластер дифференцировки 73) с высокой аффинностью и специфичностью. Также предусмотрены молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие молекулы антитела, векторы экспрессии, клетки-хозяева и способы получения молекул антитела. Также предусмотрены иммуноконъюгаты, молекулы мульти- или биспецифических антител и фармацевтические композиции, содержащие молекулы антител. Молекулы антитела к CD73, раскрытые в данном документе, можно применять (отдельно или в комбинации с другими средствами или терапевтическими воздействиями) для лечения, предупреждения и/или диагностики нарушений, в том числе иммунологических нарушений и рака. Таким образом, в данном документе раскрыты композиции и способы лечения и/или диагностики различных нарушений, в том числе рака и иммунологических нарушений, с применением молекул антитела к CD73.

Соответственно, в определенных аспектах в настоящем изобретении предусмотрена молекула антитела (например, выделенная или рекомбинантная молекула антитела), характеризующаяся одним или несколькими (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или более, например, всеми) из следующих свойств:

(i) связывается с CD73, например CD73 человека, с высокой аффинностью, например, с константой диссоциации (K_D), составляющей менее чем приблизительно 100 нМ, например менее чем приблизительно 10 нМ, 1 нМ, 0,1 нМ или 0,01 нМ, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением системы Octet;

(ii) связывается с растворимым CD73 человека или мембраносвязанным CD73 человека или и с тем, и с другим;

(iii) по сути связывается с CD73 приматов, отличных от человека, например с CD73 макака-крабоеда, с константой диссоциации (K_D), составляющей менее чем приблизительно 100 нМ, например менее чем приблизительно 10 нМ, 1 нМ, 0,1 нМ или 0,01 нМ, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением системы Octet;

(iv) не связывается с CD73 мыши, например, при определении с применением системы Octet, например, как описано в примере 1;

(v) ингибирует или уменьшает ферментативную активность CD73 (например, растворимого CD73 человека или мембраносвязанного CD73 человека), например ингибирует опосредованное CD73 человека превращение аденозинмонофосфата (АМР) в аденозин или уменьшает его уровень, что например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например, при исследовании молекулы антитела в виде бивалентного антитела с помощью количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым (МГ) или с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (СТГ), например, как описано в примере 1;

(vi) увеличивает уровень пролиферации Т-клеток, стимулированных антителом к CD3/антителом к CD28, например Т-клеток CD4+, в присутствии аденозинмонофосфата (АМР), что например, измеряют с помощью описанного в данном документе способа, например, при исследовании молекулы антитела в виде бивалентного антитела в анализе пролиферации клеток CellTrace Violet (СТВ), например, как описано в примере 1;

(vii) увеличивает уровень интернализации CD73 человека в клетку при связывании с CD73 человека, экспрессируемым на поверхности клетки, например увеличивает уровень интернализации CD73 человека в клетку в по меньшей мере 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз.

(viii) связывается с эпитопом на CD73, например таким же или сходным эпитопом, что и эпитоп, распознаваемый молекулой антитела, описанной в данном документе, например молекулой антитела к CD73 человека, описанной в данном документе, например молекулой антитела из табл. 1;

(ix) связывается с таким же эпитопом (или по сути таким же) или эпитопом, перекрывающимся (или по сути перекрывающимся) с эпитопом второй молекулы антитела к CD73, где вторая молекула антитела представляет собой молекулу антитела, описанную в данном документе, например молекулу антитела, показанную в табл. 1;

(x) ингибирует, например, конкурентно ингибирует, связывание второй молекулы антитела к CD73, где вторая молекула антитела представляет собой молекулу антитела, описанную в данном документе, например, молекулу антитела, показанную в табл. 1;

(xi) характеризуется той же или аналогичной аффинностью или специфичностью связывания, или и тем, и тем, что и молекула антитела, описанная в табл. 1, например молекула антитела, содержащая вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, показанная в табл. 1;

(xii) связывается с N-концевым доменом CD73 человека;

(xiii) связывается с А-петлей и/или В-петлей CD73 человека;

(xiv) уменьшает уровень водородно-дейтериевого обмена по одной или нескольким областям белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена;

(xv) при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), вызывает конформационное изменение остатков 368-387 из SEQ ID NO: 105;

(xvi) взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105;

(xvii) взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105;

(xviii) взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 368-387 из SEQ ID NO: 105 или 106;

(xix) взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105;

(xx) связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии;

(xxi) предпочтительно связывается с CD73 в открытой конформации, например в каталитически неактивной конформации, а не с CD73 в закрытой конформации, например в каталитически активной конформации, например не связывается или связывается с CD73 в закрытой конформации, например с CD73 в каталитически активной конформации, с более низкой аффинностью, например с аффинностью, которая ниже на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, или 99%, чем при связывании молекулы антитела с CD73 в открытой конформации, например каталитически неактивной конформации;

(xxii) блокирует CD73 человека в каталитически неактивной открытой конформации;

(xxiii) предотвращает превращение CD73 человека из каталитически неактивной открытой конформации в каталитически активную закрытую конформацию или уменьшает его уровень, например уменьшает уровень превращения в по меньшей мере 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз;

(xxiv) характеризуется одним или несколькими биологическими свойствами молекулы антитела, описанной в данном документе, например молекулы антитела, показанной в табл. 1;

(xxv) характеризуется одним или несколькими фармакокинетическими свойствами молекулы антитела, описанной в данном документе, например молекулы антитела, показанной в табл. 1;

(xxvi) модулирует (например, ингибирует) один или несколько видов активности CD73, например, приводит к одному или нескольким из следующего: ингибирование или снижение ферментативной активности CD73; ингибирование превращения аденозинмонофосфата (АМФ) в аденозин или уменьшение его уровня; увеличение уровня пролиферации Т-клеток, стимулированных антителом к CD3/антителом к CD28, например Т-клеток CD4+, в присутствии аденозинмонофосфата (АМФ); ингибирование пролиферации регуляторных Т-клеток; увеличение уровней ответных эффекторных Т-клеток; и/или ингибирование миграции, инфильтрации или размножения супрессорных клеток миелоидного происхождения.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии. В одном варианте осуществления первый или второй мономер CD73 содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления первый или второй мономер CD73 состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35% или 40% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2. В одном варианте осуществления в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35% или 40% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии (SEC), предусматривающей следующие стадии:

(i) инкубирование образца, содержащего эквивалентное количество молекулы бивалентного антитела и мономера CD73, в течение ночи при 4°C;

(ii) пропускание образца через колонку для SEC (например, колонку Shodex Protein KW-803 (ID 8×300 мм)) при комнатной температуре в буфере, содержащем 90% 2x PBS и 10% изопропанола по объему; и

(iii) анализ пиков SEC с получением относительных процентных значений различных видов антитела к CD73 путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 70%, 75% или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются

с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2. В одном варианте осуществления в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 70%, 75% или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии (SEC), предусматривающей следующие стадии:

(i) инкубирование образца, содержащего эквивалентное количество молекулы бивалентного антитела и мономера CD73, в течение ночи при 4°C;

(ii) пропускание образца через колонку для SEC (например, колонку Shodex Protein KW-803 (ID 8×300 мм)) при комнатной температуре в буфере, содержащем 90% 2x PBS и 10% изопропанола по объему; и

(iii) анализ пиков SEC с получением относительных процентных значений различных видов антитела к CD73 путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела).

В одном аспекте в данном документе раскрыто несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 60%, 65% или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекул антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2. В одном варианте осуществления в данном документе раскрыто несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 60%, 65% или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии (SEC), предусматривающей следующие стадии:

(i) инкубирование образца, содержащего эквивалентное количество молекулы бивалентного антитела и мономера CD73, в течение ночи при 4°C;

(ii) пропускание образца через колонку для SEC (например, колонку Shodex Protein KW-803 (ID 8×300 мм)) при комнатной температуре в буфере, содержащем 90% 2x PBS и 10% изопропанола по объему; и

(iii) анализ пиков SEC с получением относительных процентных значений различных видов антитела к CD73 путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела).

В одном аспекте в данном документе раскрыто несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25% или 30% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекул антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение

получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2. В одном варианте осуществления в данном документе раскрыто несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25% или 30% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии (SEC), предусматривающей следующие стадии:

(i) инкубирование образца, содержащего эквимольное количество молекулы бивалентного антитела и мономера CD73, в течение ночи при 4°C;

(ii) пропускание образца через колонку для SEC (например, колонку Shodex Protein KW-803 (ID 8×300 мм)) при комнатной температуре в буфере, содержащем 90% 2х PBS и 10% изопропанола по объему; и

(iii) анализ пиков SEC с получением относительных процентных значений различных видов антитела к CD73 путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, при этом молекула антитела предпочтительно связывается с CD73 в открытой конформации, например каталитически неактивной конформации, а не с CD73 в закрытой конформации, например каталитически активной конформации, например не связывает совсем или связывается с CD73 в закрытой конформации, например с CD73 в каталитически активной конформации, с более низкой аффинностью, например с аффинностью, которая ниже на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, или 99%, чем при связывании молекулы антитела с CD73 в открытой конформации, например каталитически неактивной конформации.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела предотвращает превращение CD73 человека из каталитически неактивной открытой конформации в каталитически активную закрытую конформацию или уменьшает его уровень, например уменьшает уровень превращения в по меньшей мере 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз по сравнению с уровнем превращения в отсутствие молекулы антитела.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остатку(ам) X_C, выбранным из коровой области C (остатки 368-387 из SEQ ID NO: 105), в большей степени, чем по остатку(ам) X_A, выбранным из коровой области A (остатки 158-172 из SEQ ID NO: 105), по остатку(ам) X_B, выбранным из коровой области B (остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105), или по остатку(ам) X_D, выбранным из коровой области D (остатки 297-309 из SEQ ID NO: 105), например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре, при этом

X_C равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, или 20,

X_A равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, или 14,

X_B равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10, и

X_D равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, или 13.

В одном варианте осуществления молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остатку(ам) X_C, выбранным из коровой области C (остатки 368-387 из SEQ ID NO: 105), в большей степени, чем по остатку(ам) X_A, выбранным из коровой области A (остатки 158-172 из SEQ ID NO: 105), по остатку(ам) X_B, выбранным из коровой области B (остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105), или по остатку(ам) X_D, выбранным из коровой области D (остатки 297-309 из SEQ ID NO: 105), например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре, при этом

мена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 368-387 из SEQ ID NO: 105 или 106. В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела взаимодействует, например прямо или косвенно, с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105.

В одном варианте осуществления молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105.

В качестве альтернативы или в комбинации с вариантом осуществления, описанным в данном документе, молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью метки для tandemной масс-спектрометрии (TMT) по остатку K136 (пронумерованному в соответствии с SEQ ID NO: 105) белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при его связывании, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением изотопного мечения с помощью TMT, например, с применением способов, описанных в примере 9, например, с применением изотопного мечения с помощью TMT, проводимого в течение времени мечения, составляющего 30 с, при этом необязательно молекула антитела дополнительно обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью TMT по одному или нескольким из остатков K133, K162, K179, K206, K214, K285, K291 и K341 (пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105) белка, например по одному или нескольким из остатков K162, K206, K214, K285, K291 и K341 (пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105) белка. В одном варианте осуществления молекула антитела обеспечивает увеличение уровня мечения с помощью TMT по одному или обоим из остатков K262 и K274 (пронумерованным в соответствии с SEQ ID NO: 105) белка при связывании с ним, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением изотопного мечения с помощью TMT, например, с применением способов, описанных в примере 9, например, с применением изотопного мечения с помощью TMT, проводимого в течение времени мечения, составляющего 30 с. В одном варианте осуществления молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью метки для tandemной масс-спектрометрии (TMT) по остаткам K206 и K214 (пронумерованным в соответствии с SEQ ID NO: 105) белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при его связывании, при этом уменьшение по остатку K214 составляет не менее 90, 80, 70, 60 или 50% от уменьшения по остатку K206, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением изотопного мечения с помощью TMT, например, с применением способов, описанных в примере 9, например, при этом уменьшение по остатку K214 составляет не менее 90, 80, 70, 60 или 50% от уменьшения по остатку K206 при применении изотопного мечения с помощью TMT, проводимого в течение времени мечения, составляющего 30 с, например, при этом уменьшение по остатку K214 составляет не менее 90, 80, 70, 60, 50, 40 или 30% от уменьшения по остатку K206 при применении изотопного мечения с помощью TMT, проводимого в течение времени мечения, составляющего 300 с. В одном варианте осуществления молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью метки для tandemной масс-спектрометрии (TMT) по остатку K162 (пронумерованному в соответствии с SEQ ID NO: 105) белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при его связывании при исследова-

нии молекулы антитела с применением изотопного мечения с помощью ТМТ, проводимого в течение времени мечения, составляющего 30 с, при этом

(i) молекула антитела не обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью ТМТ по остатку K162 при исследовании с применением изотопного мечения с помощью ТМТ, проводимого в течение времени мечения, составляющего 300 с, или

(ii) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью ТМТ по остатку K162 при исследовании с применением изотопного мечения с помощью ТМТ, проводимого в течение времени мечения, составляющего 300 с, при этом уменьшение по остатку K162 при времени мечения, составляющем 300 с составляет не более 20, 30, 40 или 50% от уменьшения по остатку K162 при времени мечения, составляющем 30с, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела, например, с применением способов, описанных в примере 9.

В качестве альтернативы или в комбинации с вариантом осуществления, описанным в данном документе, молекула антитела связывается с одним или несколькими остатками CD73, например, посредством электростатического взаимодействия и/или водородной связи, где один или несколько остатков выбраны из группы, состоящей из остатков Y110, K136, L132, L157, K162, S155 и T209, пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где молекула антитела характеризуется одним или несколькими (например, 1, 2, 3, 4 или всеми) из следующих свойств:

(i) молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи, например R54 из переменной области тяжелой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с Y110 (например, с карбонилем главной цепи Y110) или с K136 (например, с карбонилем главной цепи K136) из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), например, посредством электростатического взаимодействия, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8,

(ii) молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи, например R31 из переменной области тяжелой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с L132 (например, с карбонилем главной цепи L132) или с L157 (например, с карбонилем главной цепи L157) из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), например, посредством электростатического взаимодействия, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8,

(iii) молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи, например S99 (например, карбонил главной цепи S99), R31 (например, карбонил главной цепи R31) или E95 (например, боковая цепь E95) из переменной области тяжелой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с K162 (например, боковой цепью K162) из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), например, посредством электростатического взаимодействия, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8,

(iv) молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи, например E98 из переменной области тяжелой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с S155 (например, боковой цепью S155) из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), например, посредством водородной связи, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8, и

(v) молекула антитела (например, переменная область легкой цепи, например W32 (например, боковая цепь W32) из переменной области легкой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с T209 (например, боковой цепью T209) из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), например, посредством водородной связи, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8.

В одном варианте осуществления молекула антитела связывается с одной или несколькими областями CD73, например, посредством комплементарности формы и/или вандерваальсовых взаимодействий, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 155-170, 136-138 и 209-210, пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом молекула антитела характеризуется одним или несколькими (например, 1, 2 или всеми) из следующих свойств:

(i) молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи, например остатки 33, 50, 52, 56, 97, 98, 100 или 100a переменной области тяжелой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с остатками 155-170 из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), например, посредством комплементарности формы и/или вандерваальсовых взаимодействий, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например, с применением

ем способов, описанных в примере 8,

(ii) молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи, например остатки 30 или 31 переменной области тяжелой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с остатками 136-138 из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), например, посредством комплементарности формы и/или ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например, с применением способов, описанных в примере 8, и

(iii) молекула антитела (например, переменная область легкой цепи, например остатки 30 или 32 переменной области легкой цепи, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat) связывается с остатками 209-210 из CD73 (пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105), что, например, определено с применением анализа кристаллической структуры, например с применением способов, описанных в примере 8.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где молекула антитела содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть определяющих комплементарность областей (CDR) (или в совокупности все CDR) из переменной области тяжелой и/или переменной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл.1 (например, из последовательностей переменной области тяжелой и легкой цепи антитела, раскрытого в табл.1, например, антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398), или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл.1. В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Kabat (например, как изложено в табл.1). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Chothia (например, как изложено в табл.1). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии с комбинированной схемой нумерации, основанной на нумерации по Kabat и нумерации по Chothia (например, как изложено в табл.1). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по IMGT (например, как изложено в табл.1). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в табл.1, или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл.1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, содержащая переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, содержащая:

(i) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности X_1X_2AMS из определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотной последовательности $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG$ из VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотной последовательности GGLYGSGSYLSDFDL из VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и/или

(ii) переменную область легкой цепи (VL), содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности RASQSVGSNLA из определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотной последовательности GASTRAT из VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотной последовательности QQHNAFPYT из VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит: (i) VH, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотной последовательности VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотной последовательности VHCDR3 под SEQ ID NO: 37 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен); и VL, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотной последовательности VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотной последовательности VLCDR3 под SEQ ID NO: 50 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен);

(ii) VH, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотной последовательности VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотной последовательности VHCDR3 под SEQ ID NO: 37 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содер-

под SEQ ID NO: 57 (или последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней); или

(vi) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 117 (или последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней), и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 57 (или последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, содержащая переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, содержащая:

(i) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и/или

(ii) переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQGISSWLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность AASSLQS VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность QQGNSFPRT VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит:

(i) VH, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотной последовательности VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотной последовательности VHCDR3 под SEQ ID NO: 3 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен); и VL, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотной последовательности VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотной последовательности VLCDR3 под SEQ ID NO: 16 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен);

(ii) VH, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотной последовательности VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотной последовательности VHCDR3 под SEQ ID NO: 3 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен); и VL, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотной последовательности VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотной последовательности VLCDR3 под SEQ ID NO: 16 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен);

(iii) VH, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотной последовательности VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотной последовательности VHCDR3 под SEQ ID NO: 3 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен); и VL, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотной последовательности VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотной последовательности VLCDR3 под SEQ ID NO: 16 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен); или

(iv) VH, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотной последовательности VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотной последовательности VHCDR3 под SEQ ID NO: 3 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен); и VL, содержащую одно, два или три из аминокислотной последовательности VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотной последовательности VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотной последовательности VLCDR3 под SEQ ID NO: 16 (или последовательности, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащей одну,

аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевого типа VH1-69 человека, и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевого типа VK3-15 человека.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевого типа VH4-34 человека. В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевого типа VK1-12 человека. В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевого типа VH4-34 человека, и переменную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевого типа VK1-12 человека.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой моноклональное антитело или антитело с одной специфичностью. В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 представляет собой биспецифическое или полиспецифическое антитело. Тяжелая и легкая цепи молекулы антитела к CD73 могут быть полноразмерными (например, антитело может содержать по меньшей мере одну или по меньшей мере две полные тяжелые цепи, и по меньшей мере одну или по меньшей мере две полные легкие цепи) или могут содержать антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab, F(ab')₂, Fv, одноцепочечный фрагмент Fv, однодоменное антитело, диатело (dAb), бивалентное или биспецифическое антитело или его фрагмент, его однодоменный вариант или верблюжье антитело).

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 имеет константную область тяжелой цепи (Fc), выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE; в частности, выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, более конкретно, константной области тяжелой цепи IgG4. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи представляет такую из IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область легкой цепи, выбранную из, например, константных областей легкой каппа- или лямбда-цепи. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи представляет собой такую каппа-цепи (например, каппа-цепи человека). В некоторых вариантах осуществления константная область изменена, например подвергнута мутации, для модификации свойств молекулы антитела к CD73 (например, повышения или снижения одного или нескольких из связывания с рецептором Fc, гликозилирования антител, числа цистеиновых остатков, функции эффекторных клеток или функции комплемента). В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи IgG4, например IgG4 человека, является подвергнутой мутации в положении 228 в соответствии с нумерацией Eu (например, S на P), например, как показано в табл.3. В определенных вариантах осуществления молекулы антител к CD73 предусматривают IgG4 человека, подвергнутый мутации в положении 228 в соответствии с нумерацией Eu (например, S на P), например, как показано в табл. 3; и константную область легкой каппа-цепи, например, как показано в табл. 3. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи IgG4, например IgG4 человека, является подвергнутой мутации в положении 228 (например, S на P) и в положении 235 (например, L на E) в соответствии с нумерацией Eu, например, как показано в табл.3. В определенных вариантах осуществления молекулы антител к CD73 предусматривают IgG4 человека, подвергнутый мутации в положении 228 (например, S на P) и в положении 235 (например, L на E) в соответствии с нумерацией Eu, например, как показано в табл. 3; и константную область легкой каппа-цепи, например, как показано в табл. 3. В еще одном варианте осуществления константная область тяжелой цепи IgG1, например IgG1 человека, является подвергнутой мутации в одном или нескольких из положения 297 (например, N на A), положения 265 (например, D на A), положения 329 (например, P на A), положения 234 (например, L на A) или положения 235 (например, L на A), все в соответствии с нумерацией Eu, например, как показано в табл. 3. В определенных вариантах осуществления молекулы антител к CD73 содержат IgG1 человека, подвергнутый мутации в одном или нескольких из вышеупомянутых положений, например, как показано, в табл.3; и константную область легкой каппа-цепи, например, как показано в табл. 3.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи, выбранную из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, и константную область легкой цепи, выбранную из константных областей легкой каппа- или лямбда-цепи. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 92-103, 119 и 120, и константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 104.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к молекуле антитела, которая конкурирует с моноклональным антителом, например молекулой антитела, описанной в данном документе, за связывание с CD73 человека. Настоящее изобретение также относится к молекуле антитела, которая связывается с тем же (или по сути тем же) эпитопом, что и моноклональное антитело, например молекула антитела,

описанная в данном документе, к CD73 человека, или перекрывающимся (или по сути перекрывающимся) с ним.

В одном варианте осуществления моноклональное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В определенных вариантах осуществления моноклональное антитело содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG$

VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и/или

(ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAFPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В определенных вариантах осуществления моноклональное антитело содержит:

(i) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(iii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(iv) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(v) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(vi) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном варианте осуществления моноклональное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В определенных вариантах осуществления моноклональное антитело содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и/или

(ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQGISSWLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность AASSLQS VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность QQGNSFPRT VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В определенных вариантах осуществления моноклональное антитело содержит:

(i) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(ii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(iii) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(iv) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая содержит одну или обе нуклеотидные последовательности, которые кодируют вариабельные области тяжелой и легкой цепи, CDR, гипервариабельные петли, каркасные области молекул антитела к CD73, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, которая кодирует молекулу антитела к CD73, является кодон-оптимизированной. Например, настоящее изобретение относится к первой и второй нуклеиновым кислотам, кодирующим вариабельные области соответственно тяжелой и легкой цепей молекулы антитела к CD73, выбранной, например, из любой из 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430 или 398, совместно представленных в табл. 1, или последовательности, по сути идентичной им. Например, нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, такую, как изложено в табл. 1, или последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности, или которая отличается на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, показанных в табл. 1).

В одном аспекте раскрыты нуклеиновые кислоты, содержащие нуклеотидные последовательности, которые кодируют вариабельные области тяжелой и легкой цепи, и CDR молекул антитела к CD73, описанных в данном документе. Например, в настоящем изобретении предусмотрена первая и вторая нуклеиновые кислоты, кодирующие соответственно вариабельные области тяжелой и легкой цепей молекулы антитела к CD73 в соответствии с таблицей 1, или последовательности, по сути идентичные им. Например, нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу антитела к CD73 в соответствии с таблицей 1, или последовательность, по сути идентичную этой нуклеотидной последовательности (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности или которая отличается на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от вышеуказанной нуклеотидной последовательности).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, или гипервариабельные петли из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную

последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует переменную область тяжелой цепи, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 45, 78, 85, 143, 152, 160, 67, 32, 11 или 169 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 45, 78, 85, 143, 152, 160, 67, 32, 11 или 169.

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует тяжелую цепь, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 47, 80, 87, 69, 34 или 13 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 47, 80, 87, 69, 34 или 13.

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует переменную область легкой цепи, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 56, 144, 22 или 170 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 56, 144, 22 или 170.

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует легкую цепь, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 58 или 24 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 58 или 24.

В одном аспекте данное раскрытие относится к клеткам-хозяевам и векторам, содержащим нуклеиновые кислоты, описанные в данном документе. Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в одном векторе или отдельных векторах, присутствующих в одной и той же клетке-хозяине или отдельной клетке-хозяине. В данном документе также предусмотрен способ получения молекулы антитела к CD73, при этом способ включает культивирование клетки-хозяина, раскрытой в данном документе, в условиях, подходящих для экспрессии гена.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ получения молекулы антитела, описанной в данном документе. Способ может включать: обеспечение антигена CD73 (например, антигена, содержащего по меньшей мере часть эпитопа CD73, например, N-концевой домен антигена CD73); получение молекулы антитела, которая связывается с антигеном CD73; и оценивание того, связывается ли молекула антитела с антигеном CD73, или оценивание эффективности молекулы антитела в отношении модулирования, например стимулирования или ингибирования, активности CD73. Способ может дополнительно включать введение молекулы антитела субъекту, например человеку или животному, отличному от человека.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрены композиции, например фармацевтические композиции, которые содержат фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество или стабилизатор и по меньшей мере одну из молекул антитела к CD73, описанных в данном документе. В одном варианте осуществления композиция, например фармацевтическая композиция, содержит комбинацию молекулы антитела и одного или нескольких средств, например терапевтического средства или другой молекулы антитела, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела конъюгирована с меткой или терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления композиции, например фармацевтические композиции, содержат комбинацию молекулы антитела и второго средства, например терапевтического средства или двух или более из вышеупомянутых молекул антитела, дополнительно описанных в данном документе.

Молекулы антитела к CD73, раскрытые в данном документе, могут ингибировать, уменьшать или нейтрализовать один или несколько видов активности CD73, например аденозинмонофосфата (АМР) в аденозин обеспечивать ингибирование или уменьшение ферментативной активности CD73; ингибирование уровня превращения или уменьшение его уровня; увеличение уровня пролиферации Т-клеток, стимулированных антителом к CD3/антителом к CD28, например, Т-клеток CD4+, в присутствии аденозинмонофосфата (АМР); ингибирование пролиферации регуляторных Т-клеток; увеличение уровней ответов эффекторных Т-клеток; и/или ингибирование миграции, инфильтрации или размножения супрессорных клеток миелоидного происхождения. Таким образом, такие молекулы антител можно применять для лечения или предупреждения нарушений, при которых необходимо усиление иммунного ответа у субъекта.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вто-

рым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID

NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водо-

родно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из

аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1X_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAFPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQGISSWLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность AASSLQS VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последо-

вательность QQGNSFPRT VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73 (например, каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, например каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления свя-

зывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные

молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с ди-

мером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) каждая из молекул антитела во множестве содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYADSVKGVHCDR2$ (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAFPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокис-

лотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQGISSWLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность AASSLQS VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность QQGNSFPRT VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мо-

номера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по ос-

татам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антитела содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с

образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антигена и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антигена в комплексе по отношению к общему количеству молекул антигена, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антигена), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антигена содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антигена, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антигена содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антигена в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антигена и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антигена в комплексе по отношению к общему количеству молекул антигена, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антигена), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антигена содержит:

(a) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAFPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антигена, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антигена содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антигена в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антигена и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антигена в комплексе по отношению к общему количеству молекул антигена, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антигена), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антигена содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антигена, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антигена содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антигена в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антигена и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антигена в комплексе по отношению к общему количеству молекул антигена, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антигена), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антигена содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антигена, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антигена содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антигена в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антигена и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антигена в комплексе по отношению к общему количеству молекул антигена, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антигена), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антигена содержит:

(a) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQGISSWLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность AASSLQSVLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность QQGNSFPRT VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антигена, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), где

(i) если каждая из нескольких молекул антигена содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%,

50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекулы антитела и два или более димеров CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антитела), например, как описано в примере 2; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer

Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105; и

(ii) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105,

по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ

ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105; и

(ii) молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKGVHCDR2$ (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAFPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105,

по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKGVHCDR2$ (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность $GGLYGSYLSDFDLVHCDR3$ (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQSVGSNLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность $GASTRATVLCDR2$ (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность $QQHNAPPYTVLCDR3$ (SEQ ID NO: 50).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKGVHCDR2$ (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность $GGLYGSYLSDFDLVHCDR3$ (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQSVGSNLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность $GASTRATVLCDR2$ (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность $QQHNAPPYTVLCDR3$ (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 че-

ловека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAPPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAPPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5TYYADSVKG$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAPPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последователь-

ности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:

171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность

VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам

кам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последователь-

ности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность $ESQESPYNNWFDP$ VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQGISSWLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность $AASSLQS$ VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность $QQGNSFPRT$ VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и (ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность $ESQESPYNNWFDP$ VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQGISSWLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность $AASSLQS$ VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность $QQGNSFPRT$ VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связыва-

вание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность $ESQESPYNNWFDP$ VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQGISSWLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность $AASSLQS$ VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность $QQGNSFPRT$ VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность $ESQESPYNNWFDP$ VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQGISSWLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность $AASSLQS$ VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность $QQGNSFPRT$ VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность

из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность $ESQESPYNNWFDP$ VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQGISSWLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность $AASSLQS$ VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность $QQGNSFPRT$ VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $YIYX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность $ESQESPYNNWFDP$ VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность $RASQGISSWLA$ определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность $AASSLQS$ VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность $QQGNSFPRT$ VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172, остаткам 206-215 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность

VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 или по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и (ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-

215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105. В одном варианте осуществления связывание антитела обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105 в большей степени, чем по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105 и по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность

VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, как описано в примере 2, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 (например, pH 7,5) и комнатной температуре; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела связывается с по меньшей мере одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105, и/или с по меньшей мере одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность

VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 37).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AMS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 88), где X_1 представляет собой R, Y или S, и X_2 представляет собой Y или N; аминокислотную последовательность $X_1IX_2GX_3GX_4X_5;TYYADSVKG$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 89), где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой S или T, X_3 представляет собой S или T, X_4 представляет собой M, G или S, и X_5 представляет собой N, S, L или Y; и аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQSVGSNLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 48); аминокислотную последовательность GASTRAT VLCDR2 (SEQ ID NO: 49); и аминокислотную последовательность QQHNAFPYT VLCDR3 (SEQ ID NO: 50).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 72, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 38, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 71 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 137, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 154 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1; и

(ii) молекула антитела содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP определяющей комплементарность области 3 тяжелой цепи (VHCDR3) (SEQ ID NO: 3).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2YWS определяющей комплементарность области 1 тяжелой цепи (VHCDR1) (SEQ ID NO: 90), где X_1 представляет собой R, G или S, и X_2 представляет собой Y или R; аминокислотную последовательность $Y1YX_1X_2GSTX_3YNPSLKS$ VHCDR2 (SEQ ID NO: 91), где X_1 представляет собой G или S, X_2 представляет собой R, S или T, и X_3 представляет собой N или K; и аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3); и/или

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность RASQGISSWLA определяющей комплементарность области 1 легкой цепи (VLCDR1) (SEQ ID NO: 14); аминокислотную последовательность AASSLQS VLCDR2 (SEQ ID NO: 15); и аминокислотную последовательность QQGNSFPRT VLCDR3 (SEQ ID NO: 16).

В одном аспекте в данном документе раскрыта молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, где

(i) молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1; и

(ii) молекула антитела содержит:

(a) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 60 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 4, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 2 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16; или

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 163, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 162 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

довательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16.

Пути применения молекул антитела к CD73

Молекулы антител, раскрытые в данном документе, могут модулировать (например, усиливать, стимулировать, увеличивать, ингибировать, уменьшать или нейтрализовать) одну или несколько видов активности CD73. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела вызывает одно или несколько из ингибирования или уменьшения ферментативной активности CD73; ингибирования превращения аденозинмонофосфата (АМФ) в аденозин или уменьшение его уровня; и увеличения уровня пролиферации Т-клеток, стимулированных посредством антитела к CD3/антитела к CD28, например, Т-клеток CD4+, в присутствии аденозинмонофосфата (АМФ).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела ингибирует или уменьшает ферментативную активность CD73 (например, растворимого CD73 человека или мембраносвязанного CD73 человека), например опосредованное CD73 человека превращение аденозинмонофосфата (АМФ) в аденозин, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например с помощью количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым (MG) или модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), например, как описано в примере 1. В одном варианте осуществления молекула антитела ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на по меньшей мере приблизительно 60%, 70%, 80%, или 90%, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), включающего следующие стадии:

(i) инкубирование титрованной дозы молекулы антитела (например, 1000 нг/мл) с 20000 клеток/мл линии клеток рака человека, экспрессирующих CD73 человека (например, линии клеток рака молочной железы человека MDA-MB-231 или линии клеток рака яичника человека SKOV3) в течение 240 минут при 37°C в присутствии 100 мкМ АМФ;

(ii) измерение уровня исчезновения АМФ с применением модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), как описано в примере 1; и

(iii) вычисление процента ингибирования, опосредованного молекулой антитела, с применением контроля в нулевой момент времени в качестве 100% ингибирования и контроля отсутствия антитела в качестве 0% ингибирования.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела увеличивает уровень пролиферации Т-клеток, стимулированных антителом к CD3/антителом к CD28, например Т-клеток CD4+, в присутствии аденозинмонофосфата (АМФ), что, например, измеряют с помощью описанного в данном документе способа, например, с помощью анализа пролиферации клеток CellTrace Violet (CTV), например анализа из примера 1.

В определенных аспектах предусмотрен способ модулирования (например, стимулирования или ингибирования) иммунного ответа у субъекта. Способ предусматривает введение субъекту молекулы антитела к CD73, раскрытой в данном документе (например, терапевтически эффективного количества молекулы антитела к CD73), отдельно или в комбинации с одним или несколькими средствами или процедурами (например, в комбинации с видами противоопухолевой терапии, например химиотерапией, лучевой терапией и/или другими иммуномодулирующими средствами) таким образом, чтобы обеспечить модулирование иммунного ответа у субъекта. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела ингибирует, уменьшает или нейтрализует иммунный ответ у субъекта.

Субъект может представлять собой млекопитающее, например обезьяну, примата, предпочтительно высшего примата, например человека (например, пациента, имеющего нарушение, описанное в данном документе, или подверженного риску его возникновения). В некоторых вариантах осуществления субъект нуждается в усилении иммунного ответа, а в некоторых вариантах осуществления субъект нуждается в ингибировании иммунного ответа. В одном варианте осуществления субъект имеет нарушение или подвержен риску возникновения нарушения, описанного в данном документе, например рака, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления субъект страдает иммунной недостаточностью или подвержен риску ее возникновения. Например, субъект подвергается или подвергся лечению с помощью химиотерапии и/или лучевой терапии.

В одном аспекте предусмотрен способ стимулирования иммунного ответа у субъекта. Способ предусматривает введение субъекту молекулы антитела к CD73, описанной в данном документе, например терапевтически эффективного количества молекулы антитела к CD73, отдельно или в комбинации с одним или несколькими средствами или процедурами.

В одном аспекте предусмотрен способ лечения (например, одно или несколько из уменьшения интенсивности, ингибирования или задержки прогрессирования) рака или опухоли у субъекта. Способ предусматривает введение субъекту молекулы антитела к CD73, описанной в данном документе, например терапевтически эффективного количества молекулы антитела к CD73, отдельно или в комбинации с од-

антах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 2000 мг до 2500 мг, например 2400 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 350 мг до 450 мг, например 400 мг, Q4W. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 3000 мг до 3500 мг, например 3000 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 350 мг до 450 мг, например 400 мг, Q4W. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 3500 мг до 4000 мг, например 3600 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 350 мг до 450 мг, например 400 мг, Q4W.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба и BMS-936559.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором TIM-3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TIM-3 выбран из MGB453, TSR-022 или LY3321367.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором LAG-3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 выбран из группы, состоящей из LAG525, BMS-986016, TSR-033, MK-4280 и REGN3767.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с агонистом G1TR. В некоторых вариантах осуществления агонист G1TR выбран из группы, состоящей из GWN323 (Novartis), BMS-986156 (BMS), MK-4166 или MK-1248 (Merck), TRX518 (Leap Therapeutics), INCAGN1876 (Incyte/Agenus), AMG 228 (Amgen) и INBRX-110 (Inhibrx).

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с молекулой полиспецифического антитела к CD3. В некоторых вариантах осуществления молекула полиспецифического антитела к CD3 представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3 x к CD123 (например, XENP14045) или молекулу биспецифического антитела к CD3 x к CD20 (например, XENP13676).

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с молекулой цитокина. В некоторых вариантах осуществления молекула цитокина представляет собой IL-15, образующий комплекс с растворимой формой альфа-рецептора IL-15 (IL-15Ra).

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с агонистом STING.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), при этом необязательно ингибитор M-CSF представляет собой MCS110.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором CSF-1R, при этом необязательно ингибитор CSF-1R представляет собой BLZ945.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO).

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором TGF-β.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с антагонистом аденозинового рецептора A2AR. В некоторых вариантах антагонист аденозинового рецептора A2AR выбран из группы, состоящей из PBF509, CPI444, AZD4635, випадента, GBV-2034 и AB928. В некоторых вариантах осуществления антагонист аденозинового рецептора A2AR выбран из группы, состоящей из 5-бром-2,6-ди-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амин; (S)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-(((6-((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиримидин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин; (R)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-(((6-((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиримидин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин или его рацемата; 7-(5-метилфуран-2-ил)-3-(((6-((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиримидин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин и 6-(2-хлор-6-метилпиримидин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амин. В некоторых вариантах осуществления антагонист аденозинового рецептора A2AR вводят, например перорально, в дозе от приблизительно 20 мг до 60 мг, от приблизительно 60 мг до 100 мг, от приблизительно 100 мг до 140 мг, от приблизительно 140 мг до 180 мг, от приблизительно 180 мг до 220 мг, от приблизительно 220 мг до 260 мг, от приблизительно 260 мг до 300 мг, от приблизительно 300 мг до 340 мг, от приблизительно 340 мг до 380 мг, от приблизительно 380 мг до 480 мг, от приблизительно 480 мг до 580 мг или от приблизительно 580 мг до 680 мг, например в дозе приблизительно 40 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 480 мг или приблизительно 620 мг, например один раз в сутки (QD), два раза в сутки (BID) или три раза в сутки (TID), например BID. В некоторых вариантах осуществления молекулу анти-

вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 3500 мг до 4000 мг, например 3600 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 350 мг до 450 мг, например 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR вводят, например перорально, в дозе от приблизительно 300 мг до 340 мг, например 320 мг, BID. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 3500 мг до 4000 мг, например 3600 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 350 мг до 450 мг, например 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR вводят, например перорально, в дозе от приблизительно 480 мг до 580 мг, например 480 мг, BID. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 3500 мг до 4000 мг, например 3600 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 350 мг до 450 мг, например 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR вводят, например перорально, в дозе от приблизительно 580 мг до 680 мг, например 620 мг, BID.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с ингибитором PD-L1 и антагонистом аденозинового рецептора A2AR.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с средством терапии на основе Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR). В некоторых вариантах осуществления средство терапии на основе Т-клеток с CAR представляет собой CTL019.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в комбинации с одним или несколькими средствами, описанными в табл.18, например, одним или несколькими из 1) ингибитора протеинкиназы С (PKC); 2) ингибитора белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитора цитохрома P450 (например, ингибитора CYP17 или ингибитора 17-альфа-гидроксилазы/C17-20-лиазы); 5) железохелатирующего средства; 6) ингибитора ароматазы; 7) ингибитора p53, например ингибитора взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктора апоптоза; 9) ингибитора ангиогенеза; 10) ингибитора альдостеронсинтазы; 11) ингибитора рецептора "smoothened" (SMO); 12) ингибитора рецептора пролактина (PRLR); 13) ингибитора передачи сигналов Wnt; 14) ингибитора CDK4/6; 15) ингибитора рецептора 2 фактора роста фибробластов (FGFR2)/рецептора 4 фактора роста фибробластов (FGFR4); 16) ингибитора макрофагального колоние-стимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитора одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитора одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, c-KIT или Raf-киназы C; 19) агониста соматостатина и/или ингибитора высвобождения гормона роста; 20) ингибитора киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитора рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитора Р-гликопротеина 1; 23) ингибитора рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR); 24) ингибитора киназы BCR-ABL; 25) ингибитора FGFR; 26) ингибитора CYP11B2; 27) ингибитора HDM2, например ингибитора взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитора тирозинкиназы; 29) ингибитора c-MET; 30) ингибитора JAK; 31) ингибитора DAC; 32) ингибитора 11β-гидроксилазы; 33) ингибитора IAP; 34) ингибитора PIM-киназы; 35) ингибитора поркупина; 36) ингибитора BRAF, например BRAF V600E или BRAF дикого типа; 37) ингибитора HER3; 38) ингибитора MEK; или 39) ингибитора липидкиназы, описанных в данном документе и в табл. 18.

В определенных вариантах осуществления рак, подвергаемый лечению посредством молекулы антитела к CD73 отдельно или в комбинации со вторым терапевтическим средством или процедурой, включает без ограничения солидную опухоль, гематологический рак (например, лейкоз, лимфому, миелому, например множественную миелому) и метастатическое поражение. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), рака поджелудочной железы (например, аденокарциномы протоков поджелудочной железы), рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы), меланомы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи), колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS)), рака яичника или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы). В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73, используемая отдельно или в комбинации со вторым терапевтическим средством или процедурой, контролирует рост опухоли, уменьшает уровень метастазирования и/или улучшает выживаемость.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят в дозе от приблизительно 100 мг до 1600 мг, от приблизительно 100 мг до 1400 мг, от приблизительно 100 мг до 1200 мг, от приблизительно 100 мг до 1000 мг, от приблизительно 100 мг до 800 мг, от приблизительно 100 мг до 600 мг, от приблизительно 100 мг до 400 мг, от приблизительно 100 мг до 200 мг или приблизительно 100 мг, приблизительно 180 мг или приблизительно 200 мг, например раз в две недели. В одном варианте осуществления молекулу антитела вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 180 мг раз в две недели.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе от приблизительно 5 мг до 100 мг, от приблизительно 100 мг до 500 мг, от приблизительно 500 мг до 1000 мг, от приблизительно 1000 мг до 1500 мг, от приблизительно 1500 мг до 2000 мг, от приблизительно 2000 мг до 2500 мг, от приблизительно 2500 мг до 3000 мг, от приблизительно 3000 мг до 3500 мг или

от приблизительно 3500 мг до 4000 мг, например раз в неделю (QW), раз в две недели (Q2W) или раз в четыре недели (Q4W). В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 6 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 2400 мг, приблизительно 3000 мг или приблизительно 3600 мг, например QW, Q2W или Q4W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 60 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 200 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 600 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 1200 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 2400 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 3000 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 3600 мг Q2W.

Кроме того, в настоящем изобретении предусмотрены способы усиления иммунного ответа на антиген у субъекта, предусматривающие введение субъекту (i) антигена; и (ii) молекулы антитела к CD73, раскрытой в данном документе, таким образом, что иммунный ответ на антиген у субъекта усиливается. Антигеном может быть, например, опухолевый антиген, вирусный антиген, бактериальный антиген или антиген из патогена.

Молекулу антитела к CD73 можно вводить субъекту системно (например, перорально, парентерально, подкожно, внутривенно, ректально, внутримышечно, внутривентриально, интраназально, трансдермально или посредством ингаляции или внутривентриальной установки) или локально. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 вводят внутривенно.

Молекулу антитела к CD73 можно применять отдельно в неконъюгированной форме, или она может быть связана с веществом, например цитотоксическим средством или фрагментом (например, терапевтическим лекарственным средством; соединением, излучающим радиацию; молекулами растительного, грибкового или бактериального происхождения или биологическим белком (например, белковым токсином) или частицей (например, рекомбинантной вирусной частицей, например посредством белка оболочки вируса). Например, антитело к CD73 может быть связано с радиоактивным изотопом, таким как α -, β - или γ -излучатель, или β - и γ -излучатель.

Дозировки и терапевтические схемы приема молекулы антитела к CD73 могут быть определены специалистом в данной области техники.

В другом аспекте предусмотрен способ обнаружения CD73 в биологическом образце или у субъекта. В одном варианте осуществления способ предусматривает (i) приведение образца или субъекта (и необязательно эталонного образца или субъекта) в контакт с молекулой антитела по любому из пп. 1-57 в условиях, которые обеспечивают взаимодействие молекулы антитела и CD73, и (ii) обнаружение образования комплекса между молекулой антитела и образцом или субъектом (и необязательно эталонным образцом или субъектом).

Молекулы антител, описанные в данном документе, являются предпочтительными для применения в способах, описанных в данном документе, хотя можно применять другие антитела к CD73 вместо или в комбинации с молекулой антитела к CD73 по настоящему изобретению.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 представлен график, отображающий уровень связывания антител к CD73 или антитела изотипического контроля с Т-клетками CD8⁺, измеренный с помощью проточной цитометрии. Значения MFI нанесены на график в виде зависимости от концентрации антител. Исследуемые антитела представляют собой антитела к CD73 350, 356, 358, 373, 374, 377 и 379, а также антитело изотипического контроля, все экспрессируемые в формате В.

На фиг. 2А и 2В представлены графики, показывающие результаты количественного определения неорганического фосфата по реакции с малахитовым зеленым, в котором исследуют способность антитела к CD73 ингибировать опосредованное CD73 превращение аденозинмонофосфата (АМР) в аденозин. Скорость высвобождения неорганического фосфата (Pi) нанесена на график в виде зависимости от исследуемых концентраций АМР. На фиг. 2А рекомбинантный CD73 человека инкубировали с АМР, представляющим собой субстрат, только с буфером ("Km hCD73") или в присутствии антитела изотипического контроля IgG1 ("ISO.C"). На фиг. 2В, рекомбинантный CD73 инкубировали с АМР только с буфером ("Km hCD73") или в присутствии антитела к CD73 350.C в указанных концентрациях ("1 мкг/мл 350.C", "0,3 мкг/мл 350.C" или "0,1 мкг/мл 350.C").

На фиг. 3А, 3В и 3С представлены графики, показывающие результаты количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым (MG), в котором определяют способность антитела к CD73 ингибировать ферментативную активность рекомбинантного растворимого CD73 человека или макака-крабоеда. % INH образования фосфата наносят на график в виде зависимости от концентраций антител к CD73 для исследований с применением рекомбинантного CD73 человека (фиг. 3А и 3В) или CD73 макака-крабоеда (фиг. 3С). Исследуемые антитела представляют собой антитела к CD73 350, 356,

373 и 374, экспрессируемые в формате.А или .В.

На фиг. 4 представлен график, показывающий результаты модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), в котором исследуют активность ингибирования ферментов антител к CD73 в отношении CD73, выделенного из линии клеток рака молочной железы MDA-MB-231. % INH нанесен на график в виде зависимости от значений диапазона концентраций антитела к CD73. Исследуемые антитела представляют собой антитела к CD73 350 и 373, экспрессируемые либо в формате.А, либо.В, антитело изотипического контроля, представляющее собой IgG4 S228P ("ISO.A"), и антитело изотипического контроля, представляющее собой IgG4 S228P/L235E- ("ISO.B").

На фиг. 5 представлен график, показывающий результаты модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), в котором исследуют способность антител к CD73 ингибировать ферментативную активность CD73 в сыворотке от пациента с раком поджелудочной железы. % INH превращения АМР нанесено на график в виде зависимости от концентраций антитела к CD73. Исследуемые антитела к CD73 представляют собой антитела 350, 356, 358, 373, 374, 377 и 379, все экспрессируемые в формате.В.

На фиг. 6 представлен график, показывающий уровень ингибирования CD73, экспрессируемого на поверхности линии клеток рака молочной железы MDA-MB-231, измеренное с применением количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым. % INH превращения АМН нанесен на график в виде зависимости по диапазону концентраций антитела к CD73. Исследуемые антитела к CD73 представляют собой антитела 350, 356, 358, 373, 374, 377 и 379, все в формате.В.

Фиг. 7А, 7В, 7С и 7D представляют собой гистограммы, на которых показаны результаты модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), в котором исследуют способность антител к CD73 ингибировать ферментативную активность CD73, экспрессируемого на поверхности линии клеток рака молочной железы человека MDA-MB-231 (фиг. 7А и 7С) или линии клеток рака молочной железы мыши 4Т1 (фиг. 7В и 7D). По оси Y показан процент ингибирования относительно контроля без антител (полное превращение) и контроля в нулевой момент времени (без превращения). Для каждого антитела столбики слева направо представляют дозы 10, 3, 1 и 0,3 мкг/мл. Исследуемые антитела представляют собой антитела 918, 350, 356 и 358 линии 1 (фиг. 7А и 7В) и антитела 930, 373, 374, 376, 377, и 379 линии 3 (фиг. 7С и 7D).

Фиг. 8А и 8В представляют собой графики, на которых показана активность ингибирования фермента антител к CD73 в отношении поверхностного CD73, экспрессируемого на линии клеток рака молочной железы человека MDA-MB-231 или на линии клеток рака яичника человека SKOV3, измеренная с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG). % INH нанесен на график в виде зависимости от значений диапазона концентраций антитела к CD73. Исследуемые антитела к CD73 представляют собой антитела 350 и 373, экспрессируемые в формате.А или.В.

Фиг. 9А и 9В представляют собой графики, аналогичные таковым на фиг. 8А и 8В. Исследуемые антитела представляют собой антитела к CD73 350, 356, 373 и 374 в формате. А или.В.

Фиг. 10 представляет собой график, на котором показан уровень ингибирования CD73 человека, сверхэкспрессируемого на клетках НЕК 293, антителами к CD73, измеренный с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG). % INH превращения АМН нанесен на график в виде зависимости от значений диапазона концентраций антитела к CD73. Исследуемые антитела представляют собой антитела к CD73 350, 356, 373 и 374 в формате.А или.В.

Фиг. 11А и 11В представляют собой графики, на которых показан уровень ингибирования CD73, экспрессируемого на первичных РВМС человека, выделенных от двух отдельных доноров, посредством антител к CD73, измеренный с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG). % INH нанесен на график в виде зависимости от значений диапазона концентраций антитела к CD73. Исследуемые антитела к CD73 представляют собой антитела 350, 356 и 358, все в формате.В.

Фиг. 12А и 12В представляют собой графики, на которых показан уровень пролиферации Т-клеток CD4+, стимулированных антителом к CD3/28, в присутствии АМР и антитела к CD73. Индекс пролиферации, мера деления Т-клеток, нанесен на график в виде зависимости от значений диапазона концентраций антител. На фиг. 12А показаны результаты исследования, в котором исследуют антитела к CD73 350, 356, 358, 374, 377 и 379, все в формате.В. На фиг. 12В показаны результаты исследования с применением антител 350 и 372, экспрессируемые в формате.А или.В.

Фиг. 13 представляет собой гистограмму, на которой показаны результаты исследования ксенотрансплантата, в котором исследуют способность антитела к CD73 ингибировать ферментативную активность CD73 *in vivo*. По оси Y показаны уровни аденозина и инозина в сыворотке крови мышей с иммунной недостаточностью, которым имплантировали линию клеток рака молочной железы с высоким уровнем экспрессии CD73 (MDA-MB-231), измеренные с помощью масс-спектрометрии. Антитела к CD73 350, 356, 373 и 374, экспрессируемые в формате.А или.В, вводили внутривенно в дозе 20 или 200 мкг/мышь. Контрольное антитело, представляющее собой поликлональный IgG человека, вводили в дозе 200 мкг/мышь.

Фиг. 14 представляет собой график, на котором показано сравнение профилей защиты 373.А и 373.В, измеренных с помощью масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена с фрагментацией (HDx-MS). На фиг. 14 показаны результаты для обмена в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной тем-

пературе.

Фиг. 15 представляет собой график, на котором показано сравнение профилей защиты 350.A2 и 350.B, измеренных с помощью масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена с фрагментацией (HDx-MS). На фиг. 15 показаны результаты для обмена в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной температуре.

Фиг. 16A представляет собой графическое изображение, показывающее конформационное изменение CD73 между закрытой/активной (база данных структуры белков (PDB) 4H2I) и открытой/неактивной конформацией (PDB 4H2F). Фиг. 16B представляет собой графическое изображение, показывающее открытую/открытую конформацию димера CD73, сконструированного из двух единиц PDB 4H2F после выравнивания С-концевых доменов с PDB 4H1S.

Фиг. 17A и 17B представляют собой графики, на которых показаны SEC-профили комплексов CD73-373.A и CD73-373.B, соответственно.

Фиг. 18A и 18B представляют собой графики, на которых показаны SEC-профили комплексов CD73-350.A2 и CD73-350.B, соответственно.

Фиг. 19 представляет собой график, на котором показаны значения относительного процентного содержания видов CD73/mAb, рассчитанные с применением способа интегрирования.

Фиг. 20 представляет собой схематическое графическое изображение, показывающее модель олигомеризации для объединения интерпретаций HDx и SEC.

Фиг. 21A и 21B представляют собой графики, на которых показан уровень экспрессии CD73 в популяциях стромальных клеток, проанализированных с помощью проточной цитометрии в опухолях 4T1 от мышей, обработанных пан-антителом к TGFP или hIgG2 изотипического контроля. На фиг. 21A экспрессия CD73 отображена в виде интенсивности флуоресценции по сравнению с образцами, окрашенными с помощью соответствующих изотопических контролей. Показан один репрезентативный образец. На фиг. 21B показана количественная оценка уровня экспрессии CD73, измеренного в виде средней интенсивности флуоресценции. Каждый символ представляет образец. Р-значения указаны там, где они значимы. CAF=фибробласты, ассоциированные с раком.

Фиг. 22A, 22B и 22C представляют собой графики, на которых показаны результаты анализа, в котором оценивали влияние антитела к CD73 на рекомбинацию в В-клетках, обуславливающую переключение класса иммуноглобулинов. Интактные (CD19⁺CD27⁺IgM⁺IgD⁺) В-клетки CD73⁺ и CD73⁻ выделяли из периферической крови здоровых доноров, метили с помощью CFSE и стимулировали *in vitro* с помощью CpG 2006, антитела к CD40, IL-2, IL-21 и трансферрина. Клетки культивировали в присутствии антитела к CD73 350.B или антитела изотипического контроля (IgG4) в трех разных концентрациях: 1, 10 и 100 нг/мл. На фиг. 22A измеряли секрецию IgM в 7-дневном супернатанте клеточной культуры с применением анализа ELISA. На фиг. 22B, уровень пролиферации В-клеток измеряли на день 7, и количества поделившихся клеток, подсчитанные после осуществления электронного гейтирования разбавленной популяции CFSE, нанесены на график для трех различных исследуемых концентраций. На фиг. 22C клетки, секретирующие IgG (IgG SC) подсчитывали с помощью анализа ELISPOT в тот же момент времени. Данные собрали из двух независимых экспериментов.

Фиг. 23 представляет собой панель графиков, на которых показаны объемы отдельных опухолей для указанных групп. Мышей с изотипическим контролем умерщвляли на день 25. В группе, обработанной антителом к PD-1, мыши получали 300 мкг/мышь для всех доз. В группе, обработанной с помощью 350.B, мыши получали 600 мкг/мышь для первой дозы, а затем 400 мкг/мышь для четырех оставшихся доз. Те же схемы дозирования применялись для комбинированной группы. Всех мышей обрабатывали в дни 2, 5, 9, 12 и 17.

Фиг. 24A представляет собой пару графиков, на которых показано обнаружение биотинилированного 373.A на образцах крови от двух доноров, предварительно обработанных с помощью немеченых 373.A. FIG. 24B представляет собой график, на котором показано процентное значение занятости мишени на Т-клетках CD8⁺ антителом 373.A.

Фиг. 25A и 25B представляет собой панель графиков, на которых показано, что пролиферация Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺ подавлялась с помощью AMP во время TCR-опосредованной активации, и это подавление можно было отменить с помощью антитела 373.A.

На фиг. 26A и 26B показаны остатки CD73 (жирный, курсив и подчеркнуто одной линией), которые взаимодействуют с тяжелой цепью Fab 350.A2 посредством прямых энтальпийных взаимодействий (Y110, L132, K136, S155, L157 и K162, пронумерованные в соответствии с SEQ ID NO: 105) (фиг. 26A) или вандерваальсовых и гидрофобных взаимодействий (остатки 136-138 и 155-170, пронумерованные в соответствии с SEQ ID NO: 105) (фиг. 26B), измеренных в примере 8. На фиг. 26C и 26D показаны остатки тяжелой цепи Fab 350.A2 (жирный, курсив и подчеркнуто одной линией), которые взаимодействуют с CD73 посредством прямых энтальпийных взаимодействий (R31, R54, E95, E98 и S99, пронумерованные в соответствии с Kabat, или R31, R54, E98, E101 и S102, пронумерованные в соответствии с их линейными положениями в SEQ ID NO: 331) (фиг. 26C) или вандерваальсовых и гидрофобных взаимодействий (остатки 30, 31, 33, 50, 52, 56, 97, 98, 100, и 100a, пронумерованной в соответствии с нумерацией по Kabat, или остатки 30, 31, 33, 50, 52, 56, 100, 101, 103, и 104, пронумерованные в соответствии с их линейными

положениями в SEQ ID NO: 331) (фиг. 26D), измеренных в примере 8. На фиг. 26E и 26F показаны остатки CD73 (жирный, курсив и подчеркнута одной линией), которые взаимодействуют с легкой цепью Fab 350.A2 посредством прямых энтальпийных взаимодействий (T209, пронумерованный в соответствии с SEQ ID NO: 105) (фиг. 26E) или вандерваальсовых и гидрофобных взаимодействий (остатки 209 и 210, пронумерованные в соответствии с SEQ ID NO: 105) (фиг. 26F), измеренных в примере 8. На фиг. 26G и 26H показаны остатки легкой цепи Fab 350.A2 (жирный, курсив и подчеркнута одной линией), которые взаимодействуют с CD73 посредством прямых энтальпийных взаимодействий (W32, пронумерованная в соответствии с нумерацией по Kabat их линейными положениями в SEQ ID NO: 23) (фиг. 26G) или вандерваальсовых и гидрофобных взаимодействий (остатки 30 и 32, пронумерованные в соответствии с нумерацией по Kabat или их линейными положениями в SEQ ID NO: 23) (фиг. 26H), измеренных в примере 8. Сигнальный пептид подчеркнут двойной линией на фиг. 26A, 26B, 26E и 26F.

Фиг. 27A и 27B представляют собой графики, на которых показано отличие между уровнями меченя, наблюдаемыми для комплексов CD73/mAb и отдельно CD73 после импульса меченя 30 с.

Фиг. 28A и 28B представляют собой графики, на которых показано отличие между уровнями меченя, наблюдаемыми для комплексов CD73/mAb и отдельно CD73 после импульса меченя 300 с.

Краткое описание таблиц

В табл. 1 представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности для иллюстративных антител к CD73.

В табл. 2 представлены консенсусные последовательности CDR для иллюстративных антител к CD73.

В табл. 3 представлены аминокислотные последовательности тяжелых цепей IgG человека и легкой каппа-цепи человека.

В табл. 4 представлены иллюстративные последовательности CD73.

В табл. 5 и 6 представлены аминокислотные и/или нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к PD-1.

В табл. 7 и 8 представлены аминокислотные и/или нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к PD-L1.

В табл. 9 и 10 представлены аминокислотные и/или нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к LAG-3.

В табл. 11 и 12 представлены аминокислотные и/или нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к TIM-3.

В табл. 13 и 14 представлены аминокислотные и/или нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к GITR.

В табл. 15 представлены аминокислотные последовательности иллюстративных молекул биспецифического антитела к CD3.

В табл. 16 и 17 представлены аминокислотные последовательности иллюстративных комплексов IL15/IL-15Ra.

Табл. 18 представляет собой краткое описание выбранных терапевтических средств, которые можно вводить в комбинации с молекулами антитела к CD73, описанными в данном документе. В табл. 18 слева направо представлено следующее: обозначение соединения второго терапевтического средства, структура соединения и публикация патента(ов), в котором(ых) раскрыто указанное соединение.

В табл. 19 представлены обозначения для двух линий антител к CD73.

В табл. 20 представлены значения аффинности связывания для антител к CD73.

В табл. 21 представлены значения аффинности связывания для Fab антител к CD73.

В табл. 22 представлены предварительные уровни доз для 373.A.

В табл. 23 представлены предварительные уровни доз для 373.A в комбинации с PBF509.

В табл. 24 представлены предварительные уровни доз для 373.A в комбинации с VAP049-клон-Е.

В табл. 25 представлены предварительные уровни доз PBF509 в комбинации с 373.A и VAP049-клон-Е.

В табл. 26 представлены соответствующие последовательности зародышевого типа антител к CD73.

Подробное описание изобретения

Используемый в данном документе термин "CD73" относится к "кластеру дифференцировки 73", также известному как 5'-нуклеотидаза (5'-NT) или экто-5'-нуклеотидаза. Термин "CD73" включает мутанты, фрагменты, варианты, изоформы и гомологи полноразмерного CD73 дикого типа. В одном варианте осуществления белок CD73 кодируется геном NT5E. Иллюстративные последовательности CD73 доступны в базе данных Uniprot под номерами доступа Q6NZX3 и P21589. Иллюстративные аминокислотные последовательности незрелого CD73 представлены под SEQ ID NO: 105-107. "Мономер CD73" относится к полипептиду, содержащему внеклеточный домен CD73. В одном варианте осуществления мономер CD73 представляет собой полноразмерный CD73. "Димер CD73" относится к двум полипептидам (например, двум нековалентно связанным полипептидам), состоящим из двух мономеров CD73 (например, двух идентичных мономеров CD73), взаимодействующих друг с другом с образованием стабильного димера, например димера, образованного посредством белок-белковых взаимодействий между С-

концевыми доменами мономеров CD73. В одном варианте осуществления димер CD73 представляет собой встречающийся в природе димер CD73.

Без ограничения теории, CD73 человека содержит два домена. Консервативный N-концевой домен (соответствующий приблизительно остаткам 29-310 из SEQ ID NO: 105) и консервативный C-концевой домен (соответствующий приблизительно остаткам 343-513 из SEQ ID NO: 105), которые связаны одиночной α -спиралью (соответствующей приблизительно остаткам 318-336 из SEQ ID NO: 105). Активный сайт обнаруживается в основном в закрытой конформации и образуется между C- и N-концевыми доменами. Что касается ферментативного катализа, движение N-концевого домена на $\sim 100^\circ$ относительно C-концевого домена может обеспечить связывание и высвобождение субстрата, что происходит в открытой (каталитически неактивной) конформации. CD73 человека образует димер посредством белок-белковых взаимодействий между C-концевыми доменами. Площадь утопленной поверхности, а также молекулярные взаимодействия на границе раздела димеров значительно различаются между активной и неактивной конформациями фермента. См., например, Кпарр К, et al., Structure 20:2161-73 (2012), включенную в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Соответственно, в настоящем изобретении предусмотрены, по меньшей мере помимо всего прочего, молекулы антител, которые связываются с CD73 с высокой аффинностью и специфичностью. В одном варианте осуществления в данном документе раскрыты антитела человека, которые связываются с CD73. В одном варианте осуществления в данном документе раскрыты молекулы антител, которые способны ингибировать или уменьшать ферментативную активность CD73, например CD73 человека, например растворимого CD73 человека или мембраносвязанного CD73 человека. В одном варианте осуществления в данном документе раскрыты молекулы антител, которые способны ингибировать опосредованное CD73 превращение аденозинмонофосфата (АМР) в аденозин или уменьшать его уровень. Дополнительные аспекты настоящего изобретения включают молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие молекулы антител, векторы экспрессии, клетки-хозяева и способы получения молекул антитела. Также предусмотрены иммуноконъюгаты, молекулы поли- или биспецифических антител и фармацевтические композиции, содержащие молекулы антител. Молекулы антитела к CD73, раскрытые в данном документе, можно применять для лечения, предупреждения и/или диагностики раковых или злокачественных нарушений, например солидных опухолей и опухолей жидких тканей, например рака легких (например, немелкоклеточного рака легких), рака поджелудочной железы (например, аденокарциномы протоков поджелудочной железы), рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы), меланомы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи), колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS)), рака яичника или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы). Молекулы антитела к CD73, раскрытые в данном документе, можно применять для лечения, предупреждения и/или диагностики инфекционного заболевания. Таким образом, в данном документе раскрыты способы обнаружения CD73, а также способы лечения различных нарушений, в том числе рака и инфекционных заболеваний, с применением молекул антитела к CD73.

Дополнительные термины определены ниже и по всему тексту данной заявки.

Используемые в данном документе формы единственного числа относятся к одному или более чем одному (например, по меньшей мере одному) грамматическому объекту формы. Используемый в данном документе термин "множество" означает два или более.

Термин "или" используется в данном документе для обозначения термина "и/или" и используется взаимозаменяемо с ним, если контекст явно не указывает на иное.

Термины "приблизительно" и "примерно" будут обычно означать приемлемую степень погрешности для измеряемого количества с учетом природы или точности измерений. Иллюстративные значения степени погрешности находятся в пределах 20 процентов (%), как правило, в пределах 10%, и в большинстве случаев в пределах 5% от заданного значения или диапазона значений.

Композиции и способы, раскрытые в данном документе, охватывают полипептиды и нуклеиновые кислоты, имеющие указанные последовательности или последовательности, по сути идентичные им или сходные с ними, например последовательности, характеризующиеся по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью с указанной последовательностью. В контексте аминокислотной последовательности термин "по сути идентичный" используется в данном документе для обозначения первой аминокислотной последовательности, которая содержит достаточное или минимальное количество аминокислотных остатков, которые являются i) идентичными выровненным аминокислотным остаткам во второй аминокислотной последовательности или ii) их консервативными заменами, так что первая и вторая аминокислотные последовательности могут иметь один и тот же структурный домен и/или одну и ту же функциональную активность. Например, аминокислотные последовательности, которые содержат один и тот же структурный домен, характеризуются по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью с эталонной последовательностью, например последовательностью, предусмотренной в данном документе.

В контексте нуклеотидной последовательности термин "по сути идентичный" используется в дан-

ном документе для обозначения последовательности первой нуклеиновой кислоты, которая содержит достаточное или минимальное количество нуклеотидов, которые идентичны выровненным нуклеотидам в последовательности второй нуклеиновой кислоты, так что первая и вторая нуклеотидные последовательности кодируют полипептид, имеющий одну и ту же функциональную активность, или кодируют домен полипептида с одной и той же структурой или полипептид с одной и той же функциональной активностью. Например, нуклеотидные последовательности характеризуются по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью с эталонной последовательностью, например последовательностью, предусмотренной в данном документе.

Термин "функциональный вариант" относится к полипептидам, которые имеют аминокислотную последовательность, по сути идентичную встречающейся в природе последовательности, или кодируются по сути идентичной нуклеотидной последовательностью и способны проявлять один или несколько видов активности встречающейся в природе последовательности.

Расчеты гомологии или идентичности последовательностей между последовательностями (термины используются в данном документе взаимозаменяемо) выполняются следующим образом.

Чтобы определить процентную идентичность двух аминокислотных последовательностей или двух последовательностей нуклеиновых кислот, последовательности выравнивают в целях оптимального сравнения (например, для оптимального выравнивания можно вводить гэпы в одну или обе из первой и второй аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновых кислот, и негомологичные последовательности могут не учитываться в целях сравнения). В предпочтительном варианте осуществления длина эталонной последовательности, выровненной в целях сравнения, составляет по меньшей мере 30%, например по меньшей мере 40%, 50%, 60%, например по меньшей мере 70%, 80%, 90%, 100% длины эталонной последовательности. Затем сравнивают аминокислотные остатки или нуклеотиды в соответствующих аминокислотных положениях или нуклеотидных положениях. Если положение в первой последовательности занято тем же аминокислотным остатком или нуклеотидом, что и соответствующее положение во второй последовательности, тогда молекулы являются идентичными по данному положению.

Процентная идентичность двух последовательностей зависит от числа идентичных положений, общих для последовательностей, при этом учитывается число гэпов и длина каждого гэпа, которые необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей.

Сравнение последовательностей и определение процентной идентичности двух последовательностей можно осуществлять с применением математического алгоритма. В некоторых вариантах осуществления процентную идентичность двух аминокислотных последовательностей определяют с помощью алгоритма Нидлмана-Вунша ((1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-453), который был включен в программу GAP в составе пакета программного обеспечения GCG (доступного на <http://www.gcg.com>), с применением либо матрицы Blossom 62, либо матрицы PAM250, и штрафа за открытие гэпа, составляющего 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4, и штрафа за продление гэпа, составляющего 1, 2, 3, 4, 5 или 6. В определенных вариантах осуществления процентную идентичность между двумя нуклеотидными последовательностями определяют с применением программы GAP в составе пакета программного обеспечения GCG (доступного на <http://www.gcg.com>) с применением матрицы NWSgapdna.CMP и штрафа за открытие гэпа, составляющего 40, 50, 60, 70 или 80, и штрафа за продление гэпа, составляющего 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Одним подходящим набором параметров (и тем, который следует применять, если не указано иное) является оценочная матрица Blossum 62 со штрафом за открытие гэпа 12, штрафом за продление гэпа 4 и штрафом за сдвиг рамки гэпа 5.

Процентную идентичность двух аминокислотных или нуклеотидных последовательностей можно определить с помощью алгоритма E. Meyers и W. Miller ((1989) *CABIOS*, 4:11-17), который был включен в программу ALIGN (версия 2.0), с применением таблицы весов замен остатков PAM120, штрафа за продление гэпа 12 и штрафа за открытие гэпа 4.

Последовательности нуклеиновой кислоты и белка, описанные в данном документе, можно применять в качестве "запрашиваемой последовательности" для проведения поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации других представителей семейства или родственных последовательностей. Такие поиски можно выполнять с применением программ NBLAST и XBLAST (версия 2.0) Altschul, et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10. Поиски нуклеотидов в BLAST можно выполнять с помощью программы NBLAST, оценка=100, длина слова=12, чтобы получить нуклеотидные последовательности, гомологичные молекулам нуклеиновой кислоты, описанным в данном документе. Поиски белка в BLAST можно выполнять с помощью программы XBLAST, оценка=50, длина слова=3, чтобы получить аминокислотные последовательности, гомологичные молекулам белка, описанным в данном документе. Для получения выравниваний с гэпами в целях сравнения можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST можно применять параметры по умолчанию из соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST). См. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

Используемый в данном документе термин "гибридируется в условиях низкой жесткости, умеренной жесткости, высокой жесткости или очень высокой жесткости" описывает условия гибридизации и

отмывки. Руководство по проведению реакций гибридизации можно найти в Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6, которое включено в данный документ посредством ссылки. В этой ссылке описаны способы с применением водной среды и неводной среды, и можно применять любой из них. Конкретные условия гибридизации, упоминаемые в данном документе, являются следующими: 1) условия гибридизации низкой жесткости - в 6X хлориде натрия/цитрате натрия (SSC) при приблизительно 45°C, затем две промывки в 0,2X SSC, 0,1% SDS при по меньшей мере 50°C (температура промывок может быть повышена до 55°C для условий низкой жесткости); 2) условия гибридизации умеренной жесткости - в 6X SSC при приблизительно 45°C, затем одна или несколько промывок в 0,2X SSC, 0,1% SDS при 60°C; 3) условия гибридизации высокой жесткости - в 6X SSC при приблизительно 45°C, затем одна или несколько промывок в 0,2X SSC, 0,1% SDS при 65°C; и предпочтительно 4) условия гибридизации очень высокой жесткости представляют собой 0,5 М фосфат натрия, 7% SDS при 65°C, затем одна или несколько промывок при 0,2X SSC, 1% SDS при 65°C. Условия очень высокой жесткости (4) являются подходящими условиями и такими, которые следует использовать, если не указано иное.

Следует понимать, что молекулы по настоящему изобретению могут иметь дополнительные консервативные или несущественные аминокислотные замены, которые не оказывают существенного влияния на их функции.

Термин "аминокислота" предназначен для охвата всех молекул, как природных, так и синтетических, которые содержат как функциональную аминогруппу, так и кислотную функциональную группу, и могут быть включены в полимер из встречающихся в природе аминокислот. Типичные аминокислоты включают встречающиеся в природе аминокислоты; их аналоги, производные и родственные соединения; аналоги аминокислот, имеющие варианты боковые цепи; и все стереоизомеры любого из вышеперечисленного. Используемый в данном документе термин "аминокислота" включает как D-, так и L-оптические изомеры и пептидомиметики.

"Консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток замещается аминокислотным остатком, имеющим сходную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих сходные боковые цепи, были определены в уровне техники. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин).

Термины "полипептид", "пептид" и "белок" (если одноцепочечный) используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения полимеров из аминокислот любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и он может прерываться молекулами, отличными от аминокислот. Термины также охватывают полимер из аминокислот, который был модифицирован; например, посредством образования дисульфидной связи, гликозилирования, липидизации, ацетилирования, фосфорилирования или любой другой манипуляции, такой как конъюгирование с метящим компонентом. Полипептид может быть выделен из природных источников, может быть получен с помощью методик на основе рекомбинации из эукариотического или прокариотического хозяина или может быть продуктом процедур синтеза.

Термины "нуклеиновая кислота", "последовательность нуклеиновой кислоты", "нуклеотидная последовательность" или "полинуклеотидная последовательность" и "полинуклеотид" используются взаимозаменяемо. Они относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины, либо дезоксирибонуклеотидов, либо рибонуклеотидов, либо их аналогов. Полинуклеотид может быть либо одноцепочечным, либо двухцепочечным, и если он одноцепочечный, то может представлять собой кодирующую цепь или некодирующую (антисмысловую) цепь. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов может быть прервана компонентами, не являющимися нуклеотидами. Полинуклеотид может быть дополнительно модифицирован после полимеризации, например, путем конъюгирования с метящим компонентом. Нуклеиновая кислота может представлять собой рекомбинантный полинуклеотид или полинуклеотид геномного, cDNA, полусинтетического или синтетического происхождения, который либо не встречается в природе, либо связан с другим полинуклеотидом в неприродном расположении.

Используемый в данном документе термин "выделенный" относится к материалу, который удален из своей исходной или нативной окружающей среды (например, природной окружающей среды, если он встречается в природе). Например, встречающийся в природе полинуклеотид или полипептид, присутствующий в живом животном, не является выделенным, но тот же полинуклеотид или полипептид, выделенный посредством вмешательства человека из некоторых или из всех совместно существующих материалов в природной системе, является выделенным. Такие полинуклеотиды могут быть частью вектора, и/или такие полинуклеотиды или полипептиды могут быть частью композиции и все еще являться выде-

ленными, поскольку такой вектор или композиция не являются частью окружающей среды, в которой они встречаются в природе.

Термин "химерный антигенный рецептор" или, в качестве альтернативы "CAR" относится к набору полипептидов, как правило, двух в простейших вариантах осуществления, которые, находясь в иммунной эффекторной клетке, наделяют клетку специфичностью в отношении клетки-мишени, как правило, раковой клетки, и способностью образования внутриклеточного сигнала. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит по меньшей мере внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и цитоплазматический сигнальный домен (также называемый в данном документе "внутриклеточным сигнальным доменом"), содержащий функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы и/или костимулирующей молекулы, определенных в данном документе ниже. В некоторых аспектах полипептиды из набора являются смежными друг с другом. В некоторых вариантах осуществления набор полипептидов включает димеризационный переключатель, который при наличии антигенсвязывающего домена с внутриклеточным сигнальным доменом. В одном аспекте стимулирующая молекула представляет собой дзета-цепь, ассоциированную с Т-клеточным рецепторным комплексом. В одном аспекте цитоплазматический сигнальный домен дополнительно содержит один или несколько функциональных сигнальных доменов, полученных из по меньшей мере одной костимулирующей молекулы, определенной ниже. В одном аспекте костимулирующая молекула выбрана из костимулирующих молекул, описанных в данном документе, например, 4-1BB (т. е. CD137), CD27 и/или CD28. В одном аспекте CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы. В одном аспекте CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий функциональный сигнальный домен, полученный из костимулирующей молекулы, и функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы. В одном аспекте CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий два функциональных сигнальных домена, полученных из одной или нескольких костимулирующих молекул, и функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы. В одном аспекте CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий по меньшей мере два функциональных сигнальных домена, полученных из одной или нескольких костимулирующих молекул, и функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы. В одном аспекте CAR содержит необязательную лидерную последовательность на аминоконце (N-конце) слитого белка CAR. В одном аспекте CAR дополнительно содержит лидерную последовательность на N-конце внеклеточного антигенсвязывающего домена, при этом лидерная последовательность необязательно отщепляется от антигенсвязывающего домена (например, scFv) в ходе клеточного процесса и локализации CAR в клеточной мембране.

Термин "сигнальный домен" относится к функциональной части белка, которая действует путем передачи информации внутри клетки для регуляции клеточной активности посредством определенных сигнальных путей, образуя вторичные мессенджеры или функционируя в качестве эффекторов путем ответа на такие мессенджеры.

Используемый в данном документе термин "внутриклеточный сигнальный домен" относится к внутриклеточной части молекулы. Внутриклеточный сигнальный домен генерирует сигнал, который способствует иммунной эффекторной функции клетки, содержащей CAR, например, CART-клетки. Примеры иммунной эффекторной функции, например, у CART-клетки, включают цитолитическую активность и хелперную активность, в том числе секрецию цитокинов.

В варианте осуществления внутриклеточный сигнальный домен может предусматривать первичный внутриклеточный сигнальный домен. Иллюстративные первичные внутриклеточные сигнальные домены включают в себя домены, полученные из молекул, отвечающих за первичную стимуляцию или антигензависимую стимуляцию. В варианте осуществления внутриклеточный сигнальный домен может предусматривать костимулирующий внутриклеточный домен. Иллюстративные костимулирующие внутриклеточные сигнальные домены включают в себя домены, полученные из молекул, отвечающих за передачу костимулирующих сигналов или антигеннезависимую стимуляцию. Например, в случае CART первичный внутриклеточный сигнальный домен может предусматривать цитоплазматическую последовательность Т-клеточного рецептора, и костимулирующий внутриклеточный сигнальный домен может предусматривать цитоплазматическую последовательность корецептора или костимулирующей молекулы.

Первичный внутриклеточный сигнальный домен может содержать сигнальный мотив, который известен как иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив или ITAM. Примеры первичных цитоплазматических сигнальных последовательностей, содержащих ITAM, включают без ограничения последовательности, полученные из CD3-дзета, общей гамма-цепи FcR (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12.

Термин "дзета" или в качестве альтернативы "дзета-цепь", "CD3-дзета" или "TCR-дзета" определяют как белок, представленный под № доступа в GenBank BAG36664.1, или эквивалентные остатки из вида, отличного от человека, например, мыши, грызуна, нечеловекообразной обезьяны, человекообразной обезьяны и т. п., и "стимулирующий домен дзета" или в качестве альтернативы "стимулирующий домен CD3-дзета" или "стимулирующий домен TCR-дзета" определяют как аминокислотные остатки цитоплазматического домена дзета-цепи или его функциональных производных, которые являются достаточными для функциональной передачи исходного сигнала, необходимого для активации Т-клеток. В одном аспекте цитоплазматический домен дзета содержит остатки 52-164 под № доступа GenBank BAG36664.1 или эквивалентные остатки из вида, отличного от человека, например, мыши, грызуна, нечеловекообразной обезьяны, человекообразной обезьяны и т. п., которые являются его функциональными ортологами.

Термин "костимулирующая молекула" относится к когнатному партнеру по связыванию на Т-клетке, который связывается с костимулирующим лигандом, опосредуя тем самым костимулируемый ответ Т-клетки, такой как без ограничения пролиферация. Костимулирующие молекулы представляют собой молекулы клеточной поверхности, отличные от антигенных рецепторов или их лигандов, которые способствуют эффективному иммунному ответу. Костимулирующие молекулы включают без ограничения молекулу MHC I класса, BTLA и лиганд Toll-подобного рецептора, а также OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) и 4-1BB (CD137). Дополнительные примеры таких костимулирующих молекул включают CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8-альфа, CD8-бета, IL2R-бета, IL2R-гамма, IL7R-альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a и лиганд, который связывается с CD83.

Костимулирующий внутриклеточный сигнальный домен может представлять собой внутриклеточную часть костимулирующей молекулы. Костимулирующая молекула может быть представлена следующими семействами белков: белки семейства TNF-рецепторов, иммуноглобулиноподобные белки, цитокиновые рецепторы, интегрины, сигнальные молекулы активации лимфоцитов (белки SLAM) и активирующие рецепторы NK-клеток. Примеры таких молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, ICAM-1, антиген-1, ассоциированный с функцией лимфоцитов (LFA-1), CD2, CDS, CD7, CD287, LIGHT, NKG2C, NKG2D, SLAMF7, NKp80, NKp30, NKp44, NKp46, CD160, B7-H3 и лиганд, который связывается с CD83, и т. п.

Внутриклеточный сигнальный домен может содержать всю внутриклеточную часть или весь нативный внутриклеточный сигнальный домен молекулы, из которой он получен, или их функциональный фрагмент или производное.

Термин "4-1BB" относится к представителю суперсемейства TNFR с аминокислотной последовательностью, представленной под № доступа в GenBank AAA62478.2, или эквивалентным остаткам из вида, отличного от человека, например мыши, грызуна, нечеловекообразной обезьяны, человекообразной обезьяны и т. п.; и "костимулирующий домен 4-1BB" определяют как аминокислотные остатки 214-255 под № доступа в GenBank AAA62478.2 или эквивалентные остатки из вида, отличного от человека, например мыши, грызуна, нечеловекообразной обезьяны, человекообразной обезьяны и т. п.

Используемый в данном документе термин "иммунная эффекторная клетка" относится к клетке, которая участвует в иммунном ответе, например, способствуя иммунному эффекторному ответу. Примеры иммунных эффекторных клеток включают Т-клетки, например, альфа/бета-Т-клетки и гамма/дельта-Т-клетки, В-клетки, естественные клетки-киллеры (NK), естественные Т-клетки-киллеры (NKT), тучные клетки и фагоциты миелоидного происхождения.

Используемый в данном документе термин "иммунная эффекторная функция" или "иммунный эффекторный ответ" относится к функции или ответу, например, иммунной эффекторной клетки, которые усиливают иммунную атаку на клетку-мишень или способствуют ей. Например, иммунная эффекторная функция или ответ относятся к свойству Т- или NK-клетки, которое способствует уничтожению или ингибированию роста или пролиферации клетки-мишени. В случае с Т-клеткой первичная стимуляция и костимуляция являются примерами иммунной эффекторной функции или ответа.

Термины "ассоциированный с раком антиген" или "опухолевый антиген" взаимозаменяемо относятся к молекуле (как правило, белку, углеводу или липиду), которая экспрессируется на поверхности раковой клетки либо полностью, либо в виде фрагмента (например, молекула MHC/пептид), и которая является применимой для предпочтительного нацеливания фармакологического средства на раковую клетку. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген представляет собой маркер, экспрессируемый как нормальными клетками, так и раковыми клетками, например, маркер линии дифференцировки, например, CD19 на В-клетках. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген представляет собой молекулу клеточной поверхности, которая сверхэкспрессируется в раковой клетке по сравнению с

нормальной клеткой, например, характеризуется 1-кратной сверхэкспрессией, 2-кратной сверхэкспрессией, 3-кратной или большей сверхэкспрессией по сравнению с нормальной клеткой. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген представляет собой молекулу клеточной поверхности, которая синтезируется в раковой клетке ненадлежащим образом, например молекулу, которая содержит делеции, добавления или мутации по сравнению с молекулой, экспрессируемой на нормальной клетке. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген будет экспрессироваться исключительно на клеточной поверхности раковой клетки, полностью или в виде фрагмента (например, молекула МНС/пептид), и не будет синтезироваться или экспрессироваться на поверхности нормальной клетки. В некоторых вариантах осуществления CAR по настоящему изобретению включают CAR, содержащие антигенсвязывающий домен (например, антитело или фрагмент антитела), который связывается с пептидом, презентруемым молекулой МНС. Обычно пептиды, полученные из эндогенных белков, заполняют карманы молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса и распознаются Т-клеточными рецепторами (TCR) на Т-лимфоцитах CD8+. Комплексы молекул МНС I класса конститутивно экспрессируются всеми ядерными клетками. При раке комплексы вирусоспецифический и/или опухолеспецифический пептид/молекула МНС представляют собой уникальный класс мишеней клеточной поверхности для иммунотерапии. Были описаны TCR-подобные антитела, нацеливающиеся на пептиды, полученные из вирусных или опухолевых антигенов, связанные с лейкоцитарным антигеном человека (HLA)-A1 или HLA-A2 (см., например, Sastry et al., *J Virol.* 2011 85(5):1935-1942; Sergeeva et al., *Blood*, 2011 117(16):4262-4272; Verma et al., *J Immunol* 2010 184(4):2156-2165; Willemsen et al., *Gene Ther* 2001 8(21):1601-1608; Dao et al., *Sci Transl Med* 2013 5(176): 176ra33; Tassev et al., *Cancer Gene Ther* 2012 19(2):84-100). Например, TCR-подобное антитело можно идентифицировать при скрининге библиотеки, такой как фаг-дисплейная библиотека scFv человека.

Ниже дополнительно подробно описаны различные аспекты в отношении композиций и способов, представленных в данном документе. Дополнительные определения изложены по всему тексту настоящего описания.

Молекулы антител

В одном варианте осуществления молекула антитела связывается с CD73 млекопитающего, например человека. Например, молекула антитела связывается с эпитопом, например линейным или конформационным эпитопом, например, описанным в данном документе эпитопом, на CD73.

Используемый в данном документе термин "молекула антитела" относится к белку, например, к цепи иммуноглобулина или ее фрагменту, содержащему по меньшей мере одну последовательность варибельного домена иммуноглобулина. Термин "молекула антитела" предусматривает, например, моноклональное антитело (в том числе полноразмерное антитело, которое содержит Fc-область иммуноглобулина). В одном варианте осуществления молекула антитела предусматривает полноразмерное антитело или полноразмерную цепь иммуноглобулина. В одном варианте осуществления молекула антитела предусматривает антигенсвязывающий или функциональный фрагмент полноразмерного антитела или полноразмерной цепи иммуноглобулина.

Как используется в данном документе, молекула антитела "связывается" с антигеном, таким образом, как такое связывание понимается специалистом в данной области. В одном варианте осуществления антитело связывается с антигеном с константой диссоциации (K_D), составляющей приблизительно 1×10^{-3} М или менее, 1×10^{-4} М или менее или 1×10^{-5} М или менее.

В одном варианте осуществления молекула антитела представляет собой молекулу моноспецифического антитела и связывает один эпитоп, например молекулу моноспецифического антитела, содержащую несколько последовательностей варибельного домена иммуноглобулина, каждая из которых связывает один и тот же эпитоп.

В одном варианте осуществления молекула антитела представляет собой молекулу полиспецифического антитела, например, она содержит несколько последовательностей варибельного домена иммуноглобулина, где первая из нескольких последовательностей варибельного домена иммуноглобулина характеризуется специфичностью связывания с первым эпитопом, а вторая из нескольких последовательностей варибельного домена иммуноглобулина характеризуется специфичностью связывания со вторым эпитопом. В варианте осуществления первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В варианте осуществления первый и второй эпитопы перекрываются или по сути перекрываются. В варианте осуществления первый и второй эпитопы не перекрываются или по сути не перекрываются. В варианте осуществления первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, например на разных белках (или на разных субъединицах мультимерного белка). В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела содержит третий, четвертый или пятый варибельные домены иммуноглобулина. В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела представляет собой молекулу биспецифического антитела, молекулу триспецифического антитела или молекулу тетраспецифического антитела.

В варианте осуществления молекула полиспецифического антитела представляет собой молекулу

биспецифического антитела. Биспецифическое антитело характеризуется специфичностью в отношении не более двух антигенов. Молекула биспецифического антитела характеризуется первой последовательностью вариабельного домена иммуноглобулина, которая характеризуется специфичностью связывания с первым эпитопом, и второй последовательностью вариабельного домена иммуноглобулина, которая характеризуется специфичностью связывания со вторым эпитопом. В варианте осуществления первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В варианте осуществления первый и второй эпитопы перекрываются или по сути перекрываются. В варианте осуществления первый и второй эпитопы не перекрываются или по сути не перекрываются. В варианте осуществления первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, например на разных белках (или на разных субъединицах мультимерного белка). В варианте осуществления молекула биспецифического антитела содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи и последовательность вариабельного домена легкой цепи, которые характеризуются специфичностью связывания с первым эпитопом, и последовательность вариабельного домена тяжелой цепи и последовательность вариабельного домена легкой цепи, которые характеризуются специфичностью связывания со вторым эпитопом. В варианте осуществления молекула биспецифического антитела содержит полуантитело, характеризующееся специфичностью связывания с первым эпитопом, и полуантитело, характеризующееся специфичностью связывания со вторым эпитопом. В варианте осуществления молекула биспецифического антитела содержит полуантитело или его фрагмент, характеризующиеся специфичностью связывания с первым эпитопом, и полуантитело или его фрагмент, характеризующиеся специфичностью связывания со вторым эпитопом. В варианте осуществления молекула биспецифического антитела содержит scFv или его фрагмент, характеризующиеся специфичностью связывания с первым эпитопом, и scFv или его фрагмент, характеризующиеся специфичностью связывания со вторым эпитопом.

В одном варианте осуществления молекула антитела предусматривает диатело и одноцепочечную молекулу, а также антигенсвязывающий фрагмент антитела (например, Fab, F(ab')₂ и Fv). Например, молекула антитела может содержать последовательность вариабельного домена тяжелой (H) цепи (сокращенно в данном документе VH) и последовательность вариабельного домена легкой (L) цепи (сокращенно в данном документе VL). В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь и легкую цепь или состоит из них (в данном документе называется полуантитело). В другом примере молекула антитела содержит две последовательности вариабельных доменов тяжелой (H) цепи и две последовательности вариабельных доменов легкой (L) цепи, образуя, таким образом, два антигенсвязывающих участка, такие как Fab, Fab', F(ab')₂, Fc, Fd, Fd', Fv, одноцепочечные антитела (например, scFv), антитела с одним вариабельным доменом, диатела (Dab) (бивалентные и биспецифические) и химерные (например, гуманизированные) антитела, которые могут быть получены путем модификации целых антител или таковых, синтезированных *de novo* с использованием технологий рекомбинантной ДНК. Эти функциональные фрагменты антител сохраняют способность избирательно связываться с их соответствующим антигеном или рецептором. Антитела и фрагменты антител могут быть из любого класса антител, в том числе без ограничения IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, и из любого подкласса (например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) антител. Препарат молекул антитела может быть моноклональным или поликлональным. Молекула антитела может также представлять собой человеческое, гуманизированное, CDR-привитое или полученное *in vitro* антитело. Антитело может иметь константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Антитело также может иметь легкую цепь, выбранную, например, из каппа или лямбда. Термин "иммуноглобулин" (Ig) в данном документе используется взаимозаменяемо с термином "антитело".

Примеры антигенсвязывающих фрагментов молекулы антитела включают: (i) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; (ii) фрагмент F(ab')₂, бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент диатела (dAb), который состоит из домена VH; (vi) верблюжий или камелизованный вариабельный домен; (vii) одноцепочечный Fv (scFv), см., например, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; and Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; (viii) однодоменное антитело. Такие фрагменты антител можно получать с помощью любого подходящего способа, в том числе традиционных методик, известных специалистам в данной области, и фрагменты можно подвергать скринингу на пригодность таким же образом, как и интактные антитела.

Термин "антитело" включает интактные молекулы, а также их функциональные фрагменты. Константные области антител могут быть изменены, например подвергнуты мутации, для модификации свойств антитела (например, для повышения или снижения одного или нескольких из уровня связывания с рецептором Fc, уровня гликозилирования антител, числа цистеиновых остатков, функции эффекторных клеток или функции комплемента).

Антитела, раскрытые в данном документе, также могут представлять собой однодоменные антитела. Однодоменные антитела могут включать антитела, определяющие комплементарность области которых являются частью однодоменного полипептида. Примеры включают без ограничения антитела на

основе тяжелых цепей, антитела, в природных условиях лишены легких цепей, однодоменные антитела, полученные из традиционных 4-цепочечных антител, сконструированные антитела и однодоменные каркасные структуры, отличные от полученных из антител. Однодоменные антитела могут представлять собой любые антитела, известные из уровня техники, или любые однодоменные антитела, которые будут известны в будущем. Однодоменные антитела могут быть получены из любых видов, в том числе без ограничения из мыши, человека, верблюда, ламы, рыбы, акулы, козы, кролика и быка. Согласно другому аспекту однодоменное антитело представляет собой встречающееся в природе однодоменное антитело, известное как антитело на основе тяжелых цепей, лишённое легких цепей. Такие однодоменные антитела раскрыты в WO 9404678, например. В целях ясности этот переменный домен, полученный из антитела на основе тяжелых цепей, в природных условиях лишённый легкой цепи, именуется в данном документе как V_H или нанотело, чтобы отличать его от традиционного V_H четырехцепочечных иммуноглобулинов. Такую молекулу V_H можно получить из антител видов Camelidae, например из верблюда, ламы, дромадера, альпаки и гуанако. Другие виды, помимо Camelidae, могут продуцировать антитела на основе тяжелых цепей, в природных условиях лишённые легкой цепи; такие V_H входят в объем настоящего изобретения.

Области V_H и V_L можно подразделить на области гипервариабельности, называемые "определяющими комплементарность областями" (CDR), которые чередуются с областями, являющимися более консервативными, называемыми "каркасными областями" (FR или FW).

Размеры каркасной области и CDR были точно определены с помощью ряда способов (см. Kabat, E. A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Chothia, C. et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917; и определения AbM, используемого в программном обеспечении Oxford Molecular's AbM для моделирования антител. См. в целом, например, *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*. В: *Antibody Engineering Lab Manual* (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg).

Термины "определяющая комплементарность область" и "CDR", используемые в данном документе, относятся к последовательностям аминокислот в переменных областях антитела, которые придают антигенную специфичность и аффинность связывания. В некоторых вариантах осуществления, в каждой переменной области тяжелой цепи присутствуют три CDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), и в каждой переменной области легкой цепи присутствуют три CDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3).

Точные границы аминокислотной последовательности данного CDR могут быть определены с использованием любой из хорошо известных схем, в том числе описанных в Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (схема нумерации в соответствии с "Kabat"), Al-Lazikani et al., (1997) *JMB* 273,927-948 (схема нумерации в соответствии с "Chothia"). Как используется в данном документе, CDR, определенные в соответствии со схемой нумерации "Chothia", также иногда называют "гипервариабельными петлями".

Например, согласно Kabat аминокислотные остатки CDR в переменной домене тяжелой цепи (V_H) нумеруются 31-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3); а аминокислотные остатки CDR в переменной домене легкой цепи (V_L) нумеруются 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) и 89-97 (LCDR3). Согласно Chothia аминокислоты CDR в V_H нумеруются 26-32 (HCDR1), 52-56 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3); а аминокислотные остатки в V_L нумеруются 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) и 91-96 (LCDR3). Объединяя определения CDR согласно Kabat и согласно Chothia, CDR состоят из аминокислотных остатков 26-35 (HCDR1), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3) в человеческом V_H и аминокислотных остатков 24-34 (LCDR1), 50-56 (LCDR2) и 89-97 (LCDR3) в человеческом V_L.

Согласно всем определениям, каждый из V_H и V_L, как правило, содержит три CDR и четыре FR, расположенные от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Как правило, если конкретно не указано иное, молекулы антитела к CD73 могут содержать любую комбинацию одной или нескольких CDR по Kabat, CDR по Chothia, комбинацию CDR по Kabat и Chothia, CDR согласно EVIGT и/или альтернативному определению, например, описанному в табл.1.

Используемый в данном документе термин "последовательность переменного домена иммуноглобулина" относится к аминокислотной последовательности, которая может образовывать структуру переменного домена иммуноглобулина. Например, последовательность может содержать всю аминокислотную последовательность встречающегося в природе переменного домена или ее часть. Например, последовательность может содержать одну, две или более N- или C-концевых аминокислот, или не содержать их или может содержать другие изменения, которые совместимы с образованием белковой структуры.

Термин "антигенсвязывающий участок" относится к части молекулы антитела, которая содержит детерминанты, которые образуют участок взаимодействия, который связывается с полипептидом CD73 или его эпитопом. Что касается белков (или белковых миметиков), антигенсвязывающий участок обычно содержит одну или несколько петель (из по меньшей мере, например, четырех аминокислот или аминокислотных миметиков), которые образуют участок взаимодействия, связывающийся с полипептидом CD73. Обычно антигенсвязывающий участок молекулы антитела содержит по меньшей мере одну или

две CDR и/или гипервариабельные петли или, более обычно, по меньшей мере три, четыре, пять или шесть CDR и/или гипервариабельных петель.

Используемый в данном документе термин "нумерация Eu" относится к соглашению о нумерации Eu для константных областей антитела, как описано в Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) и Kabat et al., в "Sequences of Proteins of Immunological Interest", U.S. Dept. Health and Human Services, 5th edition, 1991.

Термины "конкурировать" или "перекрестно конкурировать" используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения способности молекулы антитела препятствовать связыванию молекулы антитела к CD73, например молекулы антитела к CD73, представленной в данном документе, с мишенью, например CD73 человека. Препятствование связыванию может быть прямым или косвенным (например, посредством аллостерической модуляции молекулы антитела или мишени). Степень, в которой молекула антитела способна препятствовать связыванию другой молекулы антитела с мишенью, и, следовательно, можно ли сказать, что она конкурирует, может быть определена с использованием анализа конкурентного связывания, например анализа методом проточной цитометрии, анализа ELISA или BIACORE. В некоторых вариантах осуществления анализа конкурентного связывания представляет собой количественный конкурентный анализ. В некоторых вариантах осуществления первая молекула антитела к CD73 конкурирует за связывание с мишенью со второй молекулой антитела к CD73, если связывание первой молекулы антитела с мишенью снижается на 10% или более, например на 20% или более, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 55% или более, 60% или более, 65% или более, 70% или более, 75% или более, 80% или более, 85% или более, 90% или более, 95% или более, 98% или более, 99% или более в конкурентном анализе связывания (например, конкурентном анализе, описанном в данном документе).

Используемый в данном документе термин "эпитоп" относится к фрагментам антигена (например, CD73 человека), которые специфически взаимодействуют с молекулой антитела. Такие фрагменты, также называемые в данном документе эпитопными детерминантами, обычно содержат или являются частью таких элементов, как боковые цепи аминокислот или боковые цепи Сахаров. Эпитопная детерминанта может быть определена способами, известными из уровня техники или раскрытыми в данном документе, например, с помощью кристаллографии или анализе водородно-дейтериевого обмена. По меньшей мере один или несколько фрагментов в молекуле антитела, которые специфически взаимодействуют с эпитопной детерминантой, обычно находятся в CDR. Как правило, эпитоп имеет специфические трехмерные характеристики структуры. Как правило, эпитоп имеет специфические характеристики заряда. Некоторые эпитопы являются линейными эпитопами, тогда как другие являются конформационными эпитопами.

В одном варианте осуществления эпитопная детерминанта представляет собой фрагмент на антигене, например такой как боковая цепь аминокислоты или боковая цепь сахара или их часть, который, когда молекула антигена и антитела совместно кристаллизуются, находится в пределах предварительно определенного расстояния, например в пределах 5 ангстрем, от фрагмента молекулы антитела, упомянуемого в данном документе как "кристаллографическая эпитопная детерминанта". Кристаллографические эпитопные детерминанты эпитопа все вместе называют "кристаллографическим эпитопом".

Первая молекула антитела связывается с тем же эпитопом, что и вторая молекула антитела (например, молекула эталонного антитела, например молекула антитела, раскрытая в данном документе), если первое антитело взаимодействует с теми же эпитопными детерминантами на антигене, что и второе антитело или эталонное антитело, например, если взаимодействие измеряют одинаковым образом как для антитела, так и для второго или эталонного антитела. Эпитопы, которые перекрываются, имеют по меньшей мере одну общую эпитопную детерминанту. Первая молекула антитела связывается с эпитопом, который перекрывается с эпитопом второй молекулы антитела (например, молекулой эталонного антитела, например антителом, раскрытым в данном документе), если обе молекулы антител взаимодействуют с одной и той же эпитопной детерминантой. Первая и вторая молекула антитела (например, молекула эталонного антитела, например молекула антитела, раскрытая в данном документе) связывают по сути перекрывающиеся эпитопы, если по меньшей мере половина эпитопных детерминант второго или эталонного антитела обнаружены как эпитопные детерминанты в эпитопе первого антитела. Первая и вторая молекула антитела (например, молекула эталонного антитела, например молекула антитела, раскрытая в данном документе) связывают по сути один и тот же эпитоп, если первая молекула антитела связывает по меньшей мере половину коровых эпитопных детерминант эпитопа второго или эталонного антитела, где коровые эпитопные детерминанты определяют, например, с помощью кристаллографии или водородно-дейтериевого обмена.

Как используется в данном документе, молекула антитела "уменьшает уровень водородно-дейтериевого обмена" во фрагменте антигена, если водородно-дейтериевый обмен во фрагменте антигена в присутствии молекулы антитела становится ниже, чем водородно-дейтериевый обмен во фрагменте антигена в отсутствие молекулы антитела, что измеряют при помощи анализа водородно-дейтериевого обмена.

Как используется в данном документе, уменьшение "среднего уровня водородно-дейтериевого об-

мена" определяется по уровню нормализованного водородно-дейтериевого обмена (Да на остаток) во фрагменте антигена в отсутствие антитела минус уровень нормализованного водородно-дейтериевого обмена (Да на остаток) во фрагменте антигена в присутствии антитела.

Используемые в данном документе термины "моноклональное антитело" или "композиция на основе моноклональных антител" относятся к препарату из молекул антитела одного молекулярного состава. Композиция на основе моноклонального антитела проявляет одну специфичность и аффинность связывания в отношении конкретного эпитопа. Моноклональное антитело может быть получено с помощью технологии гибридом или с помощью способов, в которых не используется технология гибридом (например, способов на основе рекомбинации).

"Эффективный в отношении человека" белок представляет собой белок, который не вызывает ответа с образованием нейтрализующего антитела, например ответа с образованием антитела человека к антигену мыши (НАМА). НАМА может создавать проблемы при ряде обстоятельств, например, если молекулу антитела вводят повторно, например при лечении хронического или рецидивирующего заболевания. Ответ с образованием НАМА может сделать повторное введение антител потенциально неэффективным из-за увеличения уровня выведения антител из сыворотки крови (см., например, Saleh et al., *Cancer Immunol. Immunother.*, 32:180-190 (1990)), и ввиду потенциальных аллергических реакций (см., например, LoBuglio et al., *Hybridoma*, 5:5117-5123 (1986)).

Молекула антитела может представлять собой поликлональное или моноклональное антитело. В других вариантах осуществления антитело может быть получено с помощью рекомбинации, например его можно получить с помощью дрожжевого дисплея, фагового дисплея или с помощью комбинаторных способов. В качестве альтернативы, такие антитела могут отбирать из синтетических систем презентации антител на основе дрожжей, таких как описанные, например, в Y. Xu et al., *Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool*. *PEDS* 26.10, 663-70 (2013); WO2009036379; WO2010105256; и WO2012009568, включенных в данный документ посредством ссылок во всей их полноте.

В одном варианте осуществления антитело представляет собой полностью человеческое антитело (например, антитело, полученное с помощью дрожжевого дисплея, антитело, полученное с помощью фагового дисплея, или антитело, полученное от мыши, которое сконструировали с помощью генной инженерии с получением антитела из последовательности человеческого иммуноглобулина) или антитело, не являющееся человеческим, например антитело грызуна (мыши или крысы), козы, примата (например, обезьяны) или верблюда. Способы получения антител грызунов известны из уровня техники.

Человеческие моноклональные антитела могут быть преимущественно получены с применением трансгенных мышей, несущих гены человеческого иммуноглобулина, а не мышинной системы. Спленициты от таких трансгенных мышей, иммунизированных представляющим интерес антигеном, используются для получения гибридом, которые секретируют mAb человека со специфическими значениями аффинности в отношении эпитопов из белка человека (см., например, Wood et al. международную заявку WO 91/00906, Kucherlapati et al. публикацию согласно PCT WO 91/10741; Lonberg et al. международную заявку WO 92/03918; Kay et al. международную заявку 92/03917; Lonberg, N. et al. 1994 *Nature* 368:856-859; Green, L.L. et al. 1994 *Nature Genet.* 7:13-21; Morrison, S.L. et al. 1994 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855; Bruggeman et al. 1993 *Year Immunol* 7:33-40; Tuailon et al. 1993 *PNAS* 90:3720-3724; Bruggeman et al. 1991 *Eur J Immunol* 21:1323-1326).

Антитело может представлять собой антитело, в котором переменная область или ее часть, например CDR, вырабатываются в организме, отличном от человеческого, например крысы или мыши. Химерные антитела, антитела с привитыми CDR и гуманизированные антитела включены в объем настоящего изобретения. Антитела, вырабатываемые в организме, отличном от человеческого, например в организме крысы или мыши, и которые затем подвергают модификации, например, в переменной кармане или константной области, для снижения антигенности у человека, входят в объем настоящего изобретения.

Антитела могут быть получены с помощью любых подходящих методик на основе рекомбинации ДНК, известных из уровня техники (см. Robinson et al., публикацию международной заявки на патент PCT/US86/02269; Akira, et al., заявку на европейский патент 184187; Taniguchi, M., заявку на европейский патент 171496; Morrison et al., заявку на европейский патент 173494; Neuberger et al., международную заявку WO 86/01533; Cabilly et al. патент США № 4816567; Cabilly et al., заявку на европейский патент 125023; Better et al. (1988 *Science* 240:1041-1043); Liu et al. (1987) *PNAS* 84:3439-3443; Liu et al., 1987, *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun et al. (1987) *PNAS* 84:214-218; Nishimura et al., 1987, *Cane. Res.* 47:999-1005; Wood et al. (1985) *Nature* 314:446-449; и Shaw et al., 1988, *J. Natl Cancer Inst.* 80:1553-1559).

В гуманизованном антителе или антителе с привитыми CDR по меньшей мере одну или две, но как правило, все три рецепиентные CDR (из тяжелых и легких цепей иммуноглобулина) замещают донорной CDR. Антитело может быть замещено по меньшей мере частью CDR, не принадлежащей человеку, или только некоторые из CDR могут быть замещены CDR, не принадлежащими человеку. Необходимо только заменить количество CDR, необходимых для связывания гуманизованного антитела к CD73. В некоторых вариантах осуществления донор представляет собой антитело грызуна, например антитело

крысы или мыши, а реципиент представляет собой каркасную область человека или консенсусную каркасную область человека. Как правило, иммуноглобулин, из которого получают CDR, называют "донорным", а иммуноглобулин, из которого получают каркас, называют "акцепторным". В одном варианте осуществления донорный иммуноглобулин представляет собой отличный от человеческого иммуноглобулин (например, иммуноглобулин грызуна). Акцепторная каркасная область представляет собой встречающуюся в природе (например, человеческую) каркасную область или консенсусную каркасную область или последовательность, на приблизительно 85% или больше, например на 90%, 95%, 99% или больше, идентичную им.

Используемый в данном документе термин "консенсусная последовательность" относится к последовательности, образованной из наиболее часто встречающихся аминокислот (или нуклеотидов) в семействе родственных последовательностей (см., например, Winnaker, *From Genes to Clones* (Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany 1987). В семействе белков каждое положение в консенсусной последовательности занято аминокислотой, наиболее часто встречающейся в этом положении в пределах семейства. Если две аминокислоты встречаются одинаково часто, любая из них может быть включена в консенсусную последовательность. "Консенсусный каркас" относится к каркасной области в консенсусной последовательности иммуноглобулина.

Антитело может быть гуманизировано с помощью способов, известных из уровня техники (см. например, Morrison, S. L., 1985, *Science* 229:1202-1207, Oi et al., 1986, *BioTechniques* 4:214, и Queen et al. патент США № 5585089, патент США № 5693761 и патент США № 5693762, содержание каждого из которых включено в данный документ посредством ссылки).

Гуманизированные или антитела с привитыми CDR антитела можно получать с помощью CDR-прививки или CDR-замены, где одна, две или все CDR иммуноглобулиновой цепи могут быть заменены. См., например, патент США № 5225539; Jones et al. 1986 *Nature* 321:552-525; Verhoeyan et al. 1988 *Science* 239:1534; Beidler et al. 1988 *J. Immunol.* 141:4053-4060; Winter патент США № 5225539, содержание каждого из которых специально включено в данный документ посредством ссылки

Также в объем настоящего изобретения включены гуманизированные антитела, в которых определенные аминокислоты были замещены, удалены или добавлены. Критерии выбора аминокислот от донора описаны в патенте США № 5585089, например, разделы 12-16 патента США № 5585089, например разделы 12-16 патента США № 5585089, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Другие методики гуманизации антител описаны в Padlan et al. EP 519596 A1, опубликованном 23 декабря 1992 г.

Молекула антитела может представлять собой одноцепочечное антитело. Одноцепочечное антитело (scFV) может быть сконструированным (см., например, Colcher, D. et al. (1999) *Ann N Y Acad Sci* 880:263-80; и Reiter, Y. (1996) *Clin Cancer Res* 2:245-52). Одноцепочечное антитело может быть димеризовано или мультимеризовано с получением поливалентных антител, характеризующихся специфичностью в отношении разных эпитопов одного и того же белка-мишени.

В еще других вариантах осуществления молекула антитела содержит константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE; в частности, выбранную, например, из (например, человеческих) константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. В другом варианте осуществления молекула антитела содержит константную область легкой цепи, выбранную, например, из (например, человеческой) константных областей легкой каппа-цепи или лямбда-цепи. Константная область может быть изменена, например, подвергнута мутации, для модификации свойств антитела (например, для повышения или снижения одного или нескольких из уровня связывания с рецептором Fc, уровня гликозилирования антител, числа цистеиновых остатков, функции эффекторных клеток и/или функции комплемента). В некоторых вариантах осуществления антитело обладает эффекторной функцией и может связывать комплемент. В других вариантах осуществления антитело не рекрутирует эффекторные клетки и не связывает комплемент. В определенных вариантах осуществления антитело обладает пониженной способностью связываться с рецептором Fc или не имеет ее. Например, оно может представлять собой изотип или подтип, фрагмент или другой мутант, который не поддерживает связывание с рецептором Fc, например, оно содержит область связывания с рецептором Fc, подвергнутую мутагенезу, или эта область удалена.

Способы изменения константной области антитела известны из уровня техники. Антитела с измененной функцией, например измененной аффинностью в отношении эффекторного лиганда, такого как FcR на клетке или компоненте C1 комплемента, можно получать путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка в константной части антитела другим остатком (см. например, EP 388151 A1, патент США № 5624821 и патент США № 5648260, содержание каждого из которых включено в данный документ посредством ссылки). Также рассматривают аминокислотные мутации, которые стабилизируют структуру антитела, такие как S228P (нумерация Eu) в IgG4 человека. Могут быть описаны аналогичные виды изменений, которые, в случае их применения в отношении иммуноглобулина мыши или других видов, уменьшают или устраняют эти функции.

Молекула антитела может быть дериватизированной или связанной с другой функциональной молекулой (например, другим пептидом или белком). Используемый в данном документе термин "деривати-

зированной" молекула антитела представляет собой молекулу, которая была модифицирована. Способы дериватизации включают без ограничения добавление флуоресцентного фрагмента, радионуклеотида, токсина, фермента или аффинного лиганда, такого как биотин. Соответственно, предполагается, что молекулы антител по настоящему изобретению включают дериватизированные и иным образом модифицированные формы антител, описанные в данном документе, в том числе молекулы иммуноадгезии. Например, молекула антитела может быть функционально связана (посредством химического соединения, генетического слияния, нековалентной ассоциации или иным образом) с одним или несколькими другими молекулярными объектами, такими как другое антитело (например, биспецифическое антитело или диатело), средство, обеспечивающее обнаружение, цитотоксическое средство, фармацевтическое средство и/или белок или пептид, которые могут опосредовать ассоциацию антитела или части антитела с другой молекулой (такой как коровая область стрептавидина или полигистидиновая метка).

Молекулу дериватизированного антитела одного типа получают путем сшивания двух или более антител (одного и того же типа или разных типов, например, для создания биспецифических антител). Подходящие сшивающие средства включают средства, которые являются гетеробифункциональными и при этом содержат две группы, реагирующие отдельно, разделенные подходящим спейсером (например, *m*-малеимидобензоил-*N*-гидроксисукцинимидным эфиром), или гомобифункциональными (например, дисукцинимидилсуберат). Такие линкеры доступны от Pierce Chemical Company, Рокфорд, Иллинойс.

Применимые средства, обеспечивающие обнаружение, с помощью которых можно дериватизировать (или пометить) молекулу антитела по настоящему изобретению, включают флуоресцентные соединения, различные ферменты, простетические группы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы, атомы металлов, излучающие флуоресценцию, например европий (Eu) и другие антиниды, и радиоактивные материалы (описанные ниже). Типичные флуоресцентные средства, обеспечивающие обнаружение, включают флуоресцеин, изотиоцианат флуоресцеина, родамин, 5-диметиламин-1-нафталинсульфонилхлорид, фикоэритрин и т. п. Антитело также может быть дериватизировано с помощью ферментов, обеспечивающих обнаружение, таких как щелочная фосфатаза, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, ацетилхолинэстераза, глюкозооксидаза и т. п. Если антитело дериватизировано с помощью фермента, обеспечивающего обнаружение, его обнаруживают путем добавления дополнительных реагентов, которые используются ферментом с получением детектируемого продукта реакции. Например, при присутствии средства, обеспечивающего обнаружение, представляющего собой пероксидазу хрена, добавление перекиси водорода и диаминобензидина приводит к получению окрашенного продукта реакции, который можно обнаружить. Молекула антитела также может быть дериватизирована с помощью простетической группы (например, стрептавидин/биотин и авидин/биотин). Например, антитело может быть дериватизировано с помощью биотина и обнаруживаться путем непрямого измерения уровня связывания авидина или стрептавидина. Примеры подходящих флуоресцентных материалов включают умбеллиферон, флуоресцеин, изотиоцианат флуоресцеина, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеина, дансилхлорид или фикоэритрин; пример люминесцентного материала включает люминол; и примеры биолюминесцентных материалов включают люциферазу, люциферин и экворин.

Меченую молекулу антитела можно применять, например, для диагностики и/или эксперимента в ряде случаев, в том числе (i) для выделения заранее определенного антигена с помощью стандартных методов, таких как аффинная хроматография или иммунопреципитация; (ii) для обнаружения заранее определенного антигена (например, в клеточном лизате или клеточном супернатанте) для оценки количества и характера экспрессии белка; (iii) для контроля уровней белка в ткани в качестве части процедуры клинического исследования, например, для определения эффективности данного режима лечения.

Молекула антитела может быть конъюгирована с другим молекулярным объектом, как правило, меткой или терапевтическим (например, иммуномодулирующим, иммуностимуляторным, цитотоксическим или цитостатическим) средством или фрагментом. Радиоактивные изотопы можно применять в диагностических или терапевтических применениях. Радиоактивные изотопы, которые могут быть присоединены к антителам к CD73, включают без ограничения α -, β - или γ -излучатели или β и γ -излучатели. Такие радиоактивные изотопы включают без ограничения йод (^{131}I или ^{125}I), иттрий (^{90}Y), лютеций (^{177}Lu), актинидий (^{225}Ac), празеодим, астатин (^{211}At), рений (^{186}Re), висмут (^{212}Bi или ^{213}Bi), индий (^{111}In), технеций ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), фосфор (^{32}P), родий (^{188}Rh), сера (^{35}S), углерод (^{14}C), тритий (^3H), хром (^{51}Cr), хлор (^{36}Cl), кобальт (^{57}Co или ^{58}Co), железо (^{59}Fe), селен (^{75}Se) или галлий (^{67}Ga). Радиоизотопы, применяемые в качестве терапевтических средств, включают иттрий (^{90}Y), лютеций (^{177}Lu), актинидий (^{225}Ac), празеодим, астатин (^{211}At), рений (^{186}Re), висмут (^{212}Bi или ^{213}Bi) и родий (^{188}Rh). Радиоизотопы, применяемые в качестве меток, например, для применения в диагностике, включают йод (^{131}I или ^{125}I), индий (^{111}In), технеций ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), фосфор (^{32}P), углерод (^{14}C) и тритий (^3H) или один или несколько изотопов для терапевтического применения, перечисленных выше.

Настоящее изобретение относится к молекулам антител с радиоактивной меткой и способам их мечения. В одном варианте осуществления раскрыт способ мечения молекулы антитела. Способ предусматривает приведение молекулы антитела в контакт с хелатирующим средством с получением таким образом конъюгированного антитела. Конъюгированное антитело метят радиоактивной меткой с помо-

щью радиоизотопа, например индия, иттрия и лютеция, с получением таким образом меченой молекулы антитела.

Как обсуждалось выше, молекула антитела может быть конъюгирована с терапевтическим средством. Терапевтически активные радиоизотопы уже упоминались. Примеры других терапевтических средств включают таксол, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубин, даунорубин, дигидроксиантрацидион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пуромицин, майтанзиноиды, например майтанзинол (см. патент США № 5208020), СС-1065 (см. патенты США №№ 5475092, 5585499, 5846545), и их аналоги или гомологи. Терапевтические средства включают без ограничения антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил, декарбазин), алкилирующие средства (например, мехлорэтамин, тиотэпа, хлорамбуцил, СС-1065, мелфалан, кармустин (BSNU) и ломустин (CCNU), циклофосфамид, бусульфид, дибромоманнитол, стрептозотозин, митомицин С и цис-дихлордиамин платины (II) (DDP), цисплатин), антрациклины (например, даунорубин (ранее дауномицин) и доксорубин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (АМС)) и антимитотические средства (например, винкристин, винбластин, таксол и майтанзиноиды).

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу получения молекулы, связывающей мишень, которая связывается с рецептором CD73. Например, молекула, связывающая мишень, представляет собой молекулу антитела. Способ предусматривает: предоставление белка-мишени, который содержит по меньшей мере часть белка, не являющегося человеческим, причем эта часть гомологична (идентична на по меньшей мере 70, 75, 80, 85, 87, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98, или 99%) соответствующей части белка-мишени человека, но отличается на по меньшей мере одну аминокислоту (например, по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять аминокислот); получение молекулы антитела, которая связывается с антигеном; и оценку эффективности связывающего средства в отношении модулирования активности белка-мишени. Способ может дополнительно предусматривать введение связывающего средства (например, молекулы антитела) или его производного (например, молекулы гуманизированного антитела) субъекту, представляющему собой человека.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела представляет собой молекулу полиспецифического (например, биспецифического или триспецифического) антитела. Протоколы для создания молекул биспецифического или гетеродимерного антител известны из уровня техники, включая без ограничения, например, подход "выступ во впадину", как описано, например, в US 5731168; спаривание Fc с использованием направленного электростатического взаимодействия, как описано, например, в WO 09/089004, WO 06/106905 и WO 2010/129304; образование гетеродимеров путем конструирования доменов с обменом нитей (SEED), как описано, например, в WO 07/110205; обмен Fab-фрагментами, как описано, например, в WO 08/119353, WO 2011/131746 и WO 2013/060867; двойные конъюгаты антител, например, получаемые путем сшивания антител с созданием биспецифической структуры с помощью гетеробифункционального реагента, содержащего реакционноспособную аминокислотную группу и реакционноспособную сульфгидрильную группу, как описано, например, в US 4433059; детерминанты биспецифических антител, создаваемые путем рекомбинации полуантител (пары тяжелая-легкая цепь или Fab) из разных антител посредством цикла восстановления и окисления дисульфидных связей между двумя тяжелыми цепями, как описано, например, в US 4444878; трифункциональные антитела, например, три Fab'-фрагмента, сшитые с помощью реакционноспособных сульфгидрильных групп, как описано, например, в US5273743; биосинтетические связывающие белки, например, пары scFv, сшитых на C-концевых хвостах, предпочтительно посредством химической сшивки посредством дисульфидных связей или реакционноспособных аминокислотных групп, как описано, например, в US5534254; бифункциональные антитела, например, Fab-фрагменты с различной специфичностью связывания, димеризованные с помощью лейциновых "застежек" (например, c-fos и c-jun), заменивших константный домен, как описано, например, в US5582996; биспецифические и олигоспецифические моно- и олиговалентные рецепторы, например, VH-СН1-области двух антител (два Fab-фрагмента), связанные полипептидным спейсером между СН1-областью одного антитела и VH-областью другого антитела, обычно с ассоциированными легкими цепями, как описано, например, в US5591828; биспецифические конъюгаты ДНК-антитела, например, получаемые путем сшивки антител или Fab-фрагментов двухнитевым фрагментом ДНК, как описано, например, в US5635602; биспецифические слитые белки, например, экспрессионную конструкцию, содержащую два scFv с гидрофильным спиральным пептидным линкером между ними и полной константной областью, как описано, например, в US5637481; поливалентные и полиспецифические связывающие белки, например, димер полипептидов, имеющий первый домен со связывающей областью варибельной области тяжелой цепи Ig и второй домен со связывающей областью варибельной области легкой цепи Ig, как правило, называемые диателами (также охватываются структуры более высокого порядка для создания биспецифических, триспецифических или тетраспецифических молекул, как описано, например, в US5837242; конструкции миниантител со связанными VL- и VH-цепями, дополнительно соединенными пептидными спейсерами с шарнирной областью антитела и СН3-областью, которые могут быть димеризованы с образованием биспецифических/поливалентных молекул, как описано, например, в US5837821;

VH- и VL-домены, связанные коротким пептидным линкером (например, из 5 или 10 аминокислот) или вовсе не имеющие линкера, в любой ориентации, которые могут образовывать димеры с образованием биспецифических диател; тримеры и тетрамеры, как описано, например, в US5844094; нить из VH-доменов (или VL-доменов у представителей семейства), соединенных пептидными связями со сшиваемыми группами на С-конце, дополнительно ассоциированных с VL-доменами с образованием последовательно соединенных Fv (или scFv), как описано, например, в US5864019; и одноцепочечные связывающие полипептиды как с VH-, так и с VL-доменами, связанными пептидным линкером, объединенные в поливалентные структуры посредством нековалентной или химической сшивки с образованием, например, гомобивалентных, гетеробивалентных, тривалентных и тетравалентных структур с использованием формата как типа scFv, так и типа диатела, как описано, например, в US5869620. Дополнительные иллюстративные полиспецифические и биспецифические молекулы и способы их получения находятся, например, в US5910573, US5932448, US5959083, US5989830, US6005079, US6239259, US6294353, US6333396, US6476198, US6511663, US6670453, US6743896, US6809185, US6833441, US7129330, US7183076, US7521056, US7527787, US7534866, US7612181, US2002004587A1, US2002076406A1, US2002103345A1, US2003207346A1, US2003211078A1, US2004219643A1, US2004220388A1, US2004242847A1, US2005003403A1, US2005004352A1, US2005069552A1, US2005079170A1, US2005100543A1, US2005136049A1, US2005136051A1, US2005163782A1, US2005266425A1, US2006083747A1, US2006120960A1, US2006204493A1, US2006263367A1, US2007004909A1, US2007087381A1, US2007128150A1, US2007141049A1, US2007154901A1, US2007274985A1, US2008050370A1, US2008069820A1, US2008152645A1, US2008171855A1, US2008241884A1, US2008254512A1, US2008260738A1, US2009130106A1, US2009148905A1, US2009155275A1, US2009162359A1, US2009162360A1, US2009175851A1, US2009175867A1, US2009232811A1, US2009234105A1, US2009263392A1, US2009274649A1, EP346087A2, WO0006605A2, WO02072635A2, WO04081051A1, WO06020258A2, WO2007044887A2, WO2007095338A2, WO2007137760A2, WO2008119353A1, WO2009021754A2, WO2009068630A1, WO9103493A1, WO9323537A1, WO9409131A1, WO9412625A2, WO9509917A1, WO9637621A2, WO9964460A1. Содержание вышеупомянутых заявок включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В других вариантах осуществления молекула антитела к CD73 (например, молекула моноспецифического, биспецифического или полиспецифического антитела) ковалентно связана, например слита, с другим партнером, например с белком, например одним, двумя или более цитокинами, например в виде слитой молекулы, например слитого белка.

"Слитый белок" и "слитый полипептид" относятся к полипептиду, имеющему по меньшей мере две части, ковалентно связанные друг с другом, где каждая из частей представляет собой полипептид, характеризующийся отличными свойствами. Свойство может представлять собой биологическое свойство, такое как активность *in vitro* или *in vivo*. Свойство также может представлять собой простое химическое или физическое свойство, такое как связывание с молекулой-мишенью, катализ реакции и т. д. Такие две части могут быть связаны непосредственно одной пептидной связью или с помощью пептидного линкера, но находятся в одной рамке считывания.

В настоящем изобретении предусмотрена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая любую из вышеупомянутых молекул антитела, векторы и их клетки-хозяева. Молекула нуклеиновой кислоты включает без ограничения РНК, геномную ДНК и кДНК.

Иллюстративные молекулы антител к CD73

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну антигенсвязывающую область, например вариабельную область или ее антигенсвязывающий фрагмент, из антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанных в табл. 1; или кодируемого нуклеотидной последовательностью из таблицы 1; или последовательностью по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три или четыре вариабельные области из антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанных в табл. 1; или кодируемого нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или последовательностью по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну или две вариабельные области тяжелой цепи из антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанных в табл. 1; или кодируемого нуклеотидной последовательностью из таблицы 1; или последовательностью по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой

из вышеупомянутых последовательностей.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну или две переменные области легкой цепи из антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанных в табл. 1; или кодируемого нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или последовательностью по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи IgG4, например IgG4 человека. В другом варианте осуществления IgG4 человека содержит замену (например, замену Seg на Pro) в положении 228 по нумерации Eu. В еще одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи IgG1, например IgG1 человека. В одном варианте осуществления IgG1 человека содержит замену (например, замену Asp на Ala) в положении 297 по нумерации Eu. В другом варианте осуществления IgG1 человека содержит замену (например, замену Asp на Ala) в положении 265 по нумерации Eu, замену (например, замену Pro на Ala) в положении 329 по нумерации Eu или и то, и другое. В одном варианте осуществления IgG1 человека содержит замену (например, замену Leu на Ala) в положении 234 по нумерации Eu, замену (например, замену Leu на Ala) в положении 235 по нумерации Eu или и то, и другое. В одном варианте осуществления константная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 3, или последовательность, по сути идентичную (например, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) ей.

В еще одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область легкой каппа-цепи, например константную область легкой каппа-цепи человека. В одном варианте осуществления константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 3, или последовательность, по сути идентичную (например, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) ей.

В другом варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи IgG4, например IgG4 человека, и константную область легкой каппа-цепи, например константную область легкой каппа-цепи человека, например константную область тяжелой и легкой цепей, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 3, или последовательность, по сути идентичную (например, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) ей. В еще другом варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи IgG1, например IgG1 человека, и константную область легкой каппа-цепи, например константную область легкой каппа-цепи человека, например константную область тяжелой и легкой цепей, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 3, или последовательность, по сути идентичную (например, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) ей. В одном варианте осуществления IgG1 человека содержит замену в положении 297 в соответствии с нумерацией Eu (например, замену Asp на Ala). В другом варианте осуществления IgG1 человека содержит замену в положении 265 в соответствии с нумерацией Eu, замену в положении 329 в соответствии с нумерацией Eu или обе (например, замену Asp на Ala в положении 265 и/или замену Pro на Ala в положении 329). В одном варианте осуществления IgG1 человека содержит замену в положении 234 в соответствии с нумерацией Eu, замену в положении 235 в соответствии с нумерацией Eu или обе (например, замену Leu на Ala в положении 234 и/или замену Leu на Ala в положении 235).

В другом варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит переменную область и константную область тяжелой цепи, переменную область и константную область легкой цепи, или и то, и другое, содержащие аминокислотную последовательность из 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанных в табл. 1; или кодируемых нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или последовательностью по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три определяющие комплементарность области (CDR) из переменной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанных в табл. 1, или кодируемого нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или последовательностью по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три определяющие комплементарность области (CDR) из переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1, или кодируемую нуклеотидной

последовательностью из табл. 1. В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять или больше изменений, например аминокислотных замен, вставок или делеций по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в табл.1, или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1. В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит замену в CDR тяжелой цепи, например одну или несколько замен в CDR1, CDR2 и/или CDR3 тяжелой цепи.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три определяющие комплементарность области (CDR) из варибельной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1, или кодируемого нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или последовательностью по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR (или в совокупности все CDR) из варибельной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1 или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например аминокислотных замен, вставок или делеций по сравнению с CDR, показанными в табл.1, или кодируемыми нуклеотидной последовательностью, показанной в табл.1. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR (или в совокупности все CDR) из варибельной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1 или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например аминокислотных замен, вставок или делеций по сравнению с CDR, показанными в табл. 1, или кодируемыми нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR (или в совокупности все CDR) из варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1 или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или больше изменений, например аминокислотных замен, вставок или делеций по сравнению с CDR, показанными в табл. 1, или кодируемыми нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит все шесть CDR из антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл.1, или кодируемого нуклеотидной последовательностью из таблицы 1, или близкородственные CDR, например CDR, которые являются идентичными или которые имеют по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен). В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 может содержать любую CDR, описанную в данном документе. В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит замену в CDR тяжелой цепи, например одну или несколько замен в CDR1, CDR2 и/или CDR3 тяжелой цепи.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR в соответствии с Kabat et al. (например, по меньшей мере одну, две или три CDR в соответствии с нумерацией по Kabat, изложенных в табл.1) из варибельной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл.1 или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл.1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя CDR в соответствии с Kabat et al., показанными в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR в соответствии с Kabat et al. (например, по меньшей мере одну, две или три CDR в соответствии с нумерацией по Kabat, изложенных в табл. 1) из варибельной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последо-

вательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя CDR в соответствии с Kabat et al., показанными в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR в соответствии с Kabat et al. (например, по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR в соответствии с нумерацией по Kabat, изложенных в табл. 1) из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1 или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя, тремя, четырьмя, пятью или шестью CDR в соответствии с Kabat et al., показанными в табл. 1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит все шесть CDR в соответствии с Kabat et al. (например, все шесть CDR в соответствии с нумерацией по Kabat, изложенных в табл. 1) из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1 или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению со всеми шестью CDR в соответствии с Kabat et al., показанными в табл. 1. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 может содержать любую CDR, описанную в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по Chothia (например, по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли в соответствии с нумерацией по Chothia, изложенные в табл. 1) из переменной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1, или кодируемого нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73; или которые имеют по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя гипервариабельными петлями по Chothia et al., показанными в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по Chothia (например, по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли в соответствии с нумерацией по Chothia, изложенные в табл. 1) из переменной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1, или кодируемого нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73; или которые имеют по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя гипервариабельными петлями по Chothia et al., показанными в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гипервариабельных петель (например, по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гипервариабельных петель в соответствии с нумерацией по Chothia, изложенные в табл. 1) из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398 или описанного в табл. 1, или кодируемого нуклеотидной последовательностью из табл. 1; или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73; или которые имеют по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя, тремя, четырьмя, пятью или шестью гипервариабельными петлями по Chothia et al., показанными в табл. 1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит все шесть гипервариабельных петель (например, все шесть гипервариабельных петель в соответствии с нумерацией по Chothia, изложенные в табл. 1) антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранно-

го из антителя 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или близкородственные гипервариабельные петли, например гипервариабельные петли, которые являются идентичными или которые имеют по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен); или которые имеют по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению со всеми шестью гипервариабельными петлями по Chothia et al., показанными в табл. 1. В одном варианте осуществления молекула антителя к CD73 может содержать любую гипервариабельную петлю, описанную в данном документе.

В еще одном варианте осуществления молекула антителя к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли, которые имеют те же канонические структуры, что и соответствующая гипервариабельная петля антителя, описанного в данном документе, например антителя, выбранного из антителя 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398, например те же канонические структуры, что и по меньшей мере петля 1 и/или петля 2 вариабельных доменов тяжелой и/или легкой цепей антителя, описанного в данном документе. См., например, Chothia et al., (1992) *J. Mol. Biol.* 227:799-817; Tomlinson et al., (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798 в отношении описаний канонических структур гипервариабельных петель. Эти структуры можно определить путем рассмотрения таблиц, описанных в данных ссылках.

В определенных вариантах осуществления молекула антителя к CD73 содержит комбинацию CDR или гипервариабельных петель, определенных в соответствии с Kabat et al. и Chothia et al.

В одном варианте осуществления молекула антителя к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области тяжелой цепи антителя, описанного в данном документе, например антителя, выбранного из антителя 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398, в соответствии с нумерацией по Kabat и Chothia (например, по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли в соответствии с нумерацией по Kabat и Chothia, изложенные в табл. 1); или кодируемые нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя CDR или гипервариабельными петлями по Kabat и/или Chothia, показанными в табл. 1.

В другом варианте осуществления молекула антителя к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области легкой цепи антителя, описанного в данном документе, например антителя, выбранного из антителя 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398, в соответствии с нумерацией по Kabat и Chothia (например, по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли в соответствии с нумерацией по Kabat и Chothia, изложенные в табл. 1); или кодируемые нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя CDR или гипервариабельными петлями по Kabat и/или Chothia, показанными в табл. 1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антителя к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR по нумерации LMGT (например, по меньшей мере одну, две или три CDR по нумерации LMGT, изложенные в табл. 1) из вариабельной области тяжелой цепи антителя, описанного в данном документе, например антителя, выбранного из антителя 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1 или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя CDR по нумерации LMGT, показанными в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления молекула антителя к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три CDR по нумерации LMGT (например, по меньшей мере одну, две или три CDR по нумерации LMGT, изложенные в табл. 1) из вариабельной области легкой цепи антителя, описанного в данном документе, например антителя, выбранного из антителя 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) лю-

бой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя или тремя CDR по нумерации LMGT, показанными в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR по нумерации LMGT (например, по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR по нумерации LMGT, изложенные в табл. 1) из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1 или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению с одной, двумя, тремя, четырьмя, пятью или шестью CDR по нумерации LMGT, показанными в табл. 1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит все шесть CDR по нумерации LMGT (например, все шесть CDR по нумерации LMGT, изложенные в табл. 1) из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1; или последовательностью, по сути идентичной (например, характеризующейся по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которая имеет по меньшей мере одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, делеций или вставок, например консервативных замен) по сравнению со всеми шестью CDR по нумерации LMGT, показанными в табл. 1. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 может содержать любую CDR, описанную в данном документе.

Молекула антитела к CD73 может содержать любую комбинацию CDR или гипервариабельных петель в соответствии с нумерацией по Kabat и Chothia.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по нумерации Chothia из переменной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по нумерации Chothia из переменной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по Kabat из переменной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по Kabat из переменной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по IMGT из переменной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли по IMGT из переменной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гипервариабельных петель из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит все шесть гипервариабельных петель из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, или по меньшей мере аминокислоты из тех гипервариабельных петель, которые взаимодействуют с CD73, или близкородственных гипервариабельных петель, напри-

мергипервариабельных петель, которые являются идентичными или имеют, по меньшей мере, одно изменение аминокислоты, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замен, например консервативных замен, делеций или вставок).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три гипервариабельные петли, которые имеют те же канонические структуры, что и соответствующая гипервариабельная петля антитела, описанного в данном документе, например антитела из табл. 1, например те же канонические структуры, что и по меньшей мере петля 1 и/или петля 2 вариабельных доменов тяжелой и/или легкой цепей антитела, описанного в данном документе. См., например, Chothia et al., (1992) *J. Mol. Biol.* 227:799-817; Tomlinson et al., (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798 в отношении описаний канонических структур гипервариабельных петель. Эти структуры можно определить путем рассмотрения таблиц, описанных в данных литературных источниках. В варианте осуществления, например варианте осуществления, предусматривающем вариабельную область, CDR (например, CDR по Chothia, Kabat или LMGT) или другую последовательность, упоминаемую в данном документе, например в табл. 1, молекула антитела представляет собой молекулу моноспецифического антитела, молекулу биспецифического антитела или представляет собой молекулу антитела, которая содержит антигенсвязывающий фрагмент антитела, например полуантитело или антигенсвязывающий фрагмент полуантитела.

В некоторых вариантах осуществления вариабельный домен тяжелой или легкой цепей, или оба, молекулы антитела к CD73 содержат аминокислотную последовательность, которая является по сути идентичной аминокислотной последовательности, раскрытой в данном документе, например характеризуется по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, или 99% идентичностью последовательности с вариабельной областью антитела, раскрытого в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398; или описанного в табл. 1, или кодируемого нуклеотидной последовательностью, описанной в табл. 1; или которая отличается по меньшей мере 1 или 5 остатками, но менее чем 40, 30, 20 или 10 остатками, от вариабельной области антитела, описанного в данном документе.

В определенных вариантах осуществления вариабельный домен тяжелой или легкой цепей или оба из молекулы антитела к CD73 содержат аминокислотную последовательность, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе, или нуклеиновой кислотой, которая гибридизируется с последовательностью нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе (например, последовательностью нуклеиновой кислоты, показанной в табл. 1), или последовательностью, комплементарной ей, например, в условиях низкой жесткости, средней жесткости или высокой жесткости или других условиях гибридизации, описанных в данном документе.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три или четыре антигенсвязывающие области, например вариабельные области, имеющие аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней, или которая отличается на не более чем 1, 2, 5, 10 или 15 аминокислотных остатков от последовательностей, показанных в табл. 1). В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит домен VH и/или VL, кодируемый нуклеиновой кислотой, имеющей нуклеотидную последовательность, которая кодирует антитело из табл. 1, или последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней, или которая отличается на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, показанных в табл. 1).

В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три (например, все) CDR из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три (например, все) CDR из вариабельной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен). В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть (например, все) CDR из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну,

две или три (например, все) CDR и/или гипервариабельные петли из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398,, в общем представленных в табл. 1, или последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен). В определенных вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит по меньшей мере одну, две или три (например, все) CDR и/или гипервариабельные петли из вариабельной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность антитела, описанного в данном документе, например антитела, выбранного из антитела 918, 350, 356, 358, 930, 373, 374, 376, 377, 379, 363, 366, 407, 893, 939, 430, или 398,, совместно представленных в табл. 1, или последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или содержащую одну, две, три или более замен, вставок или делеций, например консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит все шесть CDR и/или гипервариабельных петель, описанных в данном документе, например, описанных в табл. 1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела содержит вариабельную область, которая является идентичной по последовательности, или которая отличается на 1, 2, 3 или 4 аминокислоты от вариабельной области, описанной в данном документе (например, FR-области, раскрытой в данном документе).

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность GGLYGSGSYLSDFDL VHCDR3 (SEQ ID NO: 37). В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность ESQESPYNNWFDP VHCDR3 (SEQ ID NO: 3).

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 88, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 89 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50, каждая из которых раскрыта в табл.2. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 90, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 91 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 15 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 16, каждая из которых раскрыта в табл.2.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 122, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 123 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 51, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 52 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 53, каждая из которых раскрыта в табл.2. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 124, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 125 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 17, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 18 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 19, каждая из которых раскрыта в табл.2.

В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 126, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 89 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 37; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 50, каждая из которых раскрыта в табл.2. В одном варианте осуществления молекула антитела к CD73 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 127, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 91 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 3; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 14, аминокислотную последовательность

В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 293, 294, 295, 302, 52 и 299 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 296, 288, 295, 298, 49 и 299 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VH и VL, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 297 и 303 соответственно (или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 85% (например, по меньшей мере 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичностью последовательности с ними).

В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 304, 305, 306, 14, 15 и 314 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 61, 305, 306, 14, 15 и 314 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 307, 308, 306, 17, 18 и 315 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 309, 310, 311, 20, 18 и 314 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 312, 305, 311, 14, 15 и 314 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VH и VL, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 313 и 316 соответственно (или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 85% (например, по меньшей мере 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичностью последовательности с ними).

В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 317, 318, 319, 14, 15 и 328 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 320, 318, 319, 14, 15 и 328 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 321, 322, 319, 17, 18 и 329 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 323, 324, 325, 20, 18 и 328 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 326, 318, 325, 14, 15 и 328 соответственно. В других вариантах осуществления молекула антитела содержит VH и VL, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 327 и 330 соответственно (или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 85% (например, по меньшей мере 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, или 100%) идентичностью последовательности с ними).

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител выбраны из полноразмерного антитела, биспецифического антитела, Fab, F(ab')₂, Fv или одноцепочечного фрагмента Fv (scFv).

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат константную область тяжелой цепи, выбранную из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат константную область легкой цепи, выбранную из константных областей легкой каппа- или лямбда-цепи.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит переменную область тяжелой цепи, переменную область легкой цепи, константную область тяжелой цепи и/или константную область легкой цепи, раскрытые в табл. 1. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи и/или константную область легкой цепи, раскрытые в табл. 3. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 92-103, 119 и 120. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 содержит константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 104.

Иллюстративные последовательности антител к CD73 описаны в табл. 1 и 2 ниже.

Таблица 1

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности для иллюстративных антител к CD73.

358		
SEQ ID NO: 1 (объединенная)	HCDR1	GGSIGRYWS
SEQ ID NO: 2 (объединенная)	HCDR2	YIYGTGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3 (объединенная)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR1	GRYWS
SEQ ID NO: 2 (Kabat)	HCDR2	YIYGTGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR1	GGSIGR
SEQ ID NO: 6 (Chothia)	HCDR2	YGTGS
SEQ ID NO: 3 (Chothia)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 7 (IMGT)	HCDR1	GGSIGRY
SEQ ID NO: 8 (IMGT)	HCDR2	IYGTGST
SEQ ID NO: 9 (IMGT)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 199 (альтернативная)	HCDR1	GSISGRYWS
SEQ ID NO: 2 (альтернативная)	HCDR2	YIYGTGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 9 (альтернативная)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 10	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISGRYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGTGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLTVTS
SEQ ID NO: 11	ДНК, кодирующая	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCCTCCGAGACACTGTCC

	VH	CTGACCTGCACCGTGTCCGGCGGCTCCAT CTCCGGCCGGTACTGGTCTTGGATCCGGC AGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGAT CGGCTACATCTACGGCACCGGCTCCACC AACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAG TGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGA CCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGAGAGTCCCAGGAATCCCCTTACA ACAATTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGG CACCTGGTCACCGTGTCTCT
SEQ ID NO: 12	Тяжелая цепь 358.A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISG RYWSWIRQPPGKLEWIGYIYGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG X, где X представляет собой K или отсутствует.
SEQ ID NO: 13	ДНК, кодирующая тяжелую цепь 358.A	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTG GCCTGGTCAAGCCCTCCGAGACACTGTCC CTGACCTGCACCGTGTCCGGCGGCTCCAT CTCCGGCCGGTACTGGTCTTGGATCCGGC AGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGAT CGGCTACATCTACGGCACCGGCTCCACC AACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAG

		<p> TGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGA CCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGAGAGTCCCAGGAATCCCCTTACA ACAATTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGG CACCTGGTCACCGTGTCTCTGCTTCCA CCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCC CCTTGCTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTAC CGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACT ACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGG AACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCA CACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCG GCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACC GTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACCAAGA CCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCC CTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTG GAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCC TTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGAC CTTCCGTGTTCCCTGTTCCCTCAAAGCCC AAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCC CTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTTC AATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGC ACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGA ACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGT CCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGG CCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACC CTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCA AGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGGTC AAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGT GGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCCGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGC </p>
--	--	--

		<p>TGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTGTAC TCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGT GGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCC GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGCX₁X₂X₃,</p> <p>где X₁ представляет собой A, X₂ представляет собой A, и X₃ представляет собой G; или X₁ отсутствует, X₂ отсутствует и X₃ отсутствует.</p>
SEQ ID NO: 112	Тяжелая цепь 358.B	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISG RYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFEGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG X,</p> <p>где X представляет собой K или отсутствует</p>
SEQ ID NO: 14 (объединенная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (объединенная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (Kabat)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS

SEQ ID NO: 16 (Kabat)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 17 (Chothia)	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19 (Chothia)	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16 (IMGT)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (альтернативная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQG NSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	ДНК, кодирующая VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCT CCGTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGT GACCATCACCTGTCCGGCCTCCCAGGGC ATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGGCAAGGCCCTAAGCTGCTG ATCTACGCCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGG CGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC TCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTC GGACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGGA AATCAAG
SEQ ID NO: 23	Легкая цепь	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS

		RFSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQG NSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
SEQ ID NO: 24	ДНК, кодирующая легкую цепь	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCT CCGTGTCGGCCTCCGTGGGCGACAGAGT GACCATCACCTGTCGGGCCTCCCAGGGC ATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGCAAGGCCCTAAGCTGCTG ATCTACGCCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGG CGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC TCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTC GGACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTCC GTGTTCACTTCCCACCCTCCGACGAGCA GCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGT GCCTGCTGAACAATTCTACCCTCGCGAG GCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGACAACG CCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATC CGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGC ACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCT GTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAA GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGG GCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTC AACCAGGGGCGAGTGC
356		
SEQ ID NO: 25 (объединенная)	HCDR1	GGSIIEGRYWS
SEQ ID NO: 26 (объединенная)	HCDR2	YIYSGSTKYNPSLKS
SEQ ID NO: 3	HCDR3	ESQESPYNNWFDP

(объединенная)		
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR1	GRYWS
SEQ ID NO: 26 (Kabat)	HCDR2	YIYGSGSTKYNPSLKS
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 27 (Chothia)	HCDR1	GGSIAGR
SEQ ID NO: 28 (Chothia)	HCDR2	YGSGS
SEQ ID NO: 3 (Chothia)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 29 (IMGT)	HCDR1	GGSIAGRY
SEQ ID NO: 30 (IMGT)	HCDR2	IYGSGST
SEQ ID NO: 9 (IMGT)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 198 (альтернативная)	HCDR1	GSIEGRYWS
SEQ ID NO: 26 (альтернативная)	HCDR2	YIYGSGSTKYNPSLKS
SEQ ID NO: 9 (альтернативная)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 31	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIEGRYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGSGSTKYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 32	ДНК, кодирующая VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCCTCCGAGACACTGTCCCTGACCTGCACCGTGTCCGGCGGCTCTATCGAGGGCCGGTACTGGTCCTGGATCCGGCAGCCTCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACGGCTCCGGCTCCACC AAGTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCCGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGC

		GCCAGAGAGTCCCAGGAATCCCCTTACA ACAATTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGG CACCCCTGGTCACCGTGTCTCT
SEQ ID NO: 33	Тяжелая цепь 356.A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIEG RYWSWIRQPPGKLEWIGYIYGSSTKYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARESQESYNNWFDPWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG X, где X представляет собой К или отсутствует
SEQ ID NO: 34	ДНК, кодирующая тяжелую цепь 356.A	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTG GCCTGGTCAAGCCCTCCGAGACACTGTCC CTGACCTGCACCGTGTCCGCGGCTCTAT CGAGGGCCGGTACTGGTCCTGGATCCGG CAGCCTCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGA TCGGCTACATCTACGGCTCCGGCTCCACC AAGTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGAG TGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCCGTGA CCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCAGAGAGTCCCAGGAATCCCCTTACA ACAATTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGG CACCCCTGGTCACCGTGTCTCTGCCTCCA CCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCC CCTTGCTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTAC

		<p>CGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACT ACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGG AACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCA CACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCG GCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACC GTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACCAAGA CCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCC CTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTG GAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCC TTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGAC CTTCCGTGTTCCCTGTCCCTCCAAAGCCC AAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCC CTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTTC AATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGC ACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGA ACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGT CCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGG CCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACC CTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCA AGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGGTC AAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGT GGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAG AACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGC TGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTGTAC TCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGT GGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCC GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACT ACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGC $X_1X_2X_3$,</p> <p>где X_1 представляет собой A, X_2 представляет собой A, и X_3 представляет собой G; или X_1</p>
--	--	---

		отсутствует, X ₂ отсутствует и X ₃ отсутствует.
SEQ ID NO: 113	Тяжелая цепь 356.B	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIEG RYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGSGSTKYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDWPWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFEGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG</p> <p>X, где X представляет собой K или отсутствует</p>
SEQ ID NO: 14 (объединенная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (объединенная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (Kabat)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (Kabat)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 17 (Chothia)	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19 (Chothia)	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QGISSW

SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16 (IMGT)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (альтернативная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTTTCRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQG NSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	ДНК, кодирующая VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCT CCGTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGT GACCATCACCTGTCGGGCCTCCCAGGGC ATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGGCAAGGCCCTAAGCTGCTG ATCTACGCCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGG CGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC TCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTC GGACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGGA AATCAAG
SEQ ID NO: 23	Легкая цепь	DIQMTQSPSSVSASVGDRTTTCRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQG NSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
SEQ ID NO: 24	ДНК, кодирующая	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCT CCGTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGT

	легкую цепь	GACCATCACCTGTCGGGCCTCCCAGGGC ATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGGCAAGGCCCTAAGCTGCTG ATCTACGCCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGG CGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC TCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTC GGACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTCC GTGTTTCACTTCCCACCCTCCGACGAGCA GCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGT GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAG GCCAAAGTGCAGTGAAAGTGGACAACG CCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATC CGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGC ACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCT GTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAA GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGG GCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTC AACCGGGGCGAGTGC
373		
SEQ ID NO: 35 (объединенная)	HCDR1	GFTFHRYAMS
SEQ ID NO: 36 (объединенная)	HCDR2	AISGSGMNTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38 (Kabat)	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 36 (Kabat)	HCDR2	AISGSGMNTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 39 (Chothia)	HCDR1	GFTFHRY
SEQ ID NO: 40	HCDR2	SGSGMN

(Chothia)		
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 41 (IMGT)	HCDR1	GFTFHRYA
SEQ ID NO: 42 (IMGT)	HCDR2	ISGSGMNT
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 190 (альтернативная)	HCDR1	FTFHRYAMS
SEQ ID NO: 36 (альтернативная)	HCDR2	AISGSGMNTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 44	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFH RYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGMNT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWG RGTLVTVSS
SEQ ID NO: 45	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAG ACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCT TCCACAGATACGCCATGTCTGGGTCCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGG TGTCCGCCATCTCCGGCTCCGGCATGAAC ACCTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCCGGGACAACCTCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCC CTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA ACTGTGCCAGAGGCGGCCTGTACGGCTC CGGCTCCTACCTGTCCGACTTCGACCTGT GGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGTC CTCC
SEQ ID NO: 46	Тяжелая цепь 373.A	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFH RYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGMNT YYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR

		<p>AEDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGX,</p> <p>где X представляет собой K или отсутствует</p>
<p>SEQ ID NO: 47</p>	<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь 373.А</p>	<p>GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAG ACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCT TCCACAGATACGCCATGTCCTGGGTCCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGG TGTCCGCCATCTCCGGCTCCGGCATGAAC ACCTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCCGGGACAACCTCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCC CTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA ACTGTGCCAGAGGCGGCCTGTACGGCTC CGGCTCCTACCTGTCCGACTTCGACCTGT GGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGT CTCCGCTCCACAAAGGGCCCCTCCGTGT TCCCTCTGGCCCCTTGCTCCCGGTCCACC TCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCT CGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCCTG ACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGAC CTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGC TGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCC AGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCT</p>

		<p>GGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTG GACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGG ACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCTGAGT TCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTC CCTCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGA TCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTG GTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCG AAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCT GCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCC AAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCC AAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGA AGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTG ACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTC CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAAC GGCCAGCCCGAGAACAАCTACAAGACCA CCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCC TTCTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTC TTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTG TCCCTGTCTCTGGGC $X_1X_2X_3$,</p> <p>где X_1 представляет собой A, X_2 представляет собой A, и X_3 представляет собой G; или X_1 отсутствует, X_2 отсутствует и X_3 отсутствует.</p>
SEQ ID NO: 114	Тяжелая цепь 373.B	<p>EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFH RYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGGMNT YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGGLYGS SYLSDFDLWG RGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSEST</p>

		AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT CNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCAP EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGX, где X представляет собой K или отсутствует
SEQ ID NO: 48 (объединенная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (объединенная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (объединенная)	LCDR3	QHNAPFYT
SEQ ID NO: 48 (Kabat)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (Kabat)	LCDR3	QHNAPFYT
SEQ ID NO: 51 (Chothia)	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53 (Chothia)	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54 (IMGT)	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50 (IMGT)	LCDR3	QHNAPFYT
SEQ ID NO: 48 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT

SEQ ID NO: 50 (альтернативная)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHN AFPYTFGGGKVEIK
SEQ ID NO: 56	ДНК, кодирующая VI.	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCCAGTCCGT GGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCCCTCGGCTGCTGA TCTACGGCGCCTCTACCAGAGCCACCGG CATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCTCC AGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCT TACACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGG AAATCAAG
SEQ ID NO: 57	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHN AFPYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
SEQ ID NO: 58	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCCAGTCCGT GGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCCCTCGGCTGCTGA TCTACGGCGCCTCTACCAGAGCCACCGG CATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCTCC AGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGT

		ACTACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCT TACACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGG AAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTC CGTGTTTCATCTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGT GTGCCTGCTGAACAATTCTACCCTCGCG AGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGACAA CGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAA TCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACA GCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACC CTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCA GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCT TCAACCGGGGCGAGTGC
350		
SEQ ID NO: 59 (объединенная)	HCDR1	GGSIERYYS
SEQ ID NO: 60 (объединенная)	HCDR2	YIYGRGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3 (объединенная)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 61 (Kabat)	HCDR1	RYYYS
SEQ ID NO: 60 (Kabat)	HCDR2	YIYGRGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 62 (Chothia)	HCDR1	GGSIERY
SEQ ID NO: 63 (Chothia)	HCDR2	YGRGS
SEQ ID NO: 3 (Chothia)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 64 (IMGT)	HCDR1	GGSIERY
SEQ ID NO: 65 (IMGT)	HCDR2	IYGRGST
SEQ ID NO: 9 (IMGT)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 197	HCDR1	GSIERYS

(альтернативная)		
SEQ ID NO: 60 (альтернативная)	HCDR2	YIYGRGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 9 (альтернативная)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 66	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIER YYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGRGSTNYN PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVS S
SEQ ID NO: 67	ДНК, кодирующая VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTG GCCTGGTCAAGCCCTCCGAGACACTGTCC CTGACCTGCACCGTGTCCGGCGGCTCCAT CGAGCGGTACTACTGGTCCTGGATCCGG CAGCCTCCCGCAAGGGCCTGGAATGGA TCGGCTACATCTACGGCAGAGGCTCCAC CAACTACAACCCAGCCTGAAGTCCAGA GTGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGA ACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTG ACCGCCGCTGACACCGCCGTGTAATACTG CGCCAGAGAGTCCCAGGAATCCCCTTAC AACAAATTGGTTTCGACCCCTGGGGCCAGG GCACCCTGGTCACCGTGTCTCT
SEQ ID NO: 68	Тяжелая цепь 350.A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIER YYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGRGSTNYN PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM

		<p>TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG X, где X представляет собой К или отсутствует</p>
<p>SEQ ID NO: 69</p>	<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь 350.A</p>	<p>CAAGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTG GCCTGGTCAAGCCCTCCGAGACACTGTCC CTGACCTGCACCGTGTCCGGCGGCTCCAT CGAGCGGTACTACTGGTCCTGGATCCGG CAGCCTCCCGCAAGGGCCTGGAATGGA TCGGCTACATCTACGGCAGAGGCTCCAC CAACTACAACCCAGCCTGAAGTCCAGA GTGACCATCTCCGTGGACACCTCCAAGA ACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTG ACCGCCGCTGACACCGCCGTGTAATACTG CGCCAGAGAGTCCCAGGAATCCCCTTAC AACAAATTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGG GCACCCTGGTCACCGTGTCTCTGCCTCC ACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGC CCCTTGCTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTA CCGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGA CTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCT GGAACTCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCT CCGGCCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCTGTG ACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACCAA GACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAG CCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGG TGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCT CCTTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGG ACCTTCCGTGTTCCCTGTTCCCTCCAAGC CCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGAC CCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGAC GTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGT TCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGT</p>

		<p>GCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAG GAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGG TGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGAC TGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCA AAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAG CATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAG GGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTA CCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGAC CAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGTCTGG TCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCC GTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCG AGAACA ACTACAAGACCACCCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTGT ACTCTCGGCTGACCGTGGACAAGTCCCG GTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCT CCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCA CTACACCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTC TGGGC $X_1X_2X_3$,</p> <p>где X_1 представляет собой A, X_2 представляет собой A, и X_3 представляет собой G; или X_1 отсутствует, X_2 отсутствует и X_3 отсутствует.</p>
SEQ ID NO: 115	Тяжелая цепь 350.B	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIER YYWSWIRQPPGKLEWIGYIYGRGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFEGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW</p>

		QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG X, где X представляет собой K или отсутствует
SEQ ID NO: 331	Тяжелая цепь 350 Fab	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIER YYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYGRGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGP
SEQ ID NO: 14 (объединенная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (объединенная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (Kabat)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (Kabat)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 17 (Chothia)	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19 (Chothia)	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16 (IMGT)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16	LCDR3	QQGNSFPRT

(альтернативная)		
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFLTISSLPEDFATYYCQQG NSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 22	ДНК, кодирующая VL	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCT CCGTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGT GACCATCACCTGTCCGGCCTCCCAGGGC ATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGCAAGGCCCTAAGCTGCTG ATCTACGCCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGG CGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC TCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTC GGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGTGGA AATCAAG
SEQ ID NO: 23	Легкая цепь	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFLTISSLPEDFATYYCQQG NSFPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVCLLNFPYAPREKRVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
SEQ ID NO: 24	ДНК, кодирующая легкую цепь	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCT CCGTGTCCGCCTCCGTGGGCGACAGAGT GACCATCACCTGTCCGGCCTCCCAGGGC ATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCA GAAGCCCGCAAGGCCCTAAGCTGCTG ATCTACGCCGCCTCCAGCCTGCAGTCCGG CGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC TCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGGGCAACTCCTTCCCTC

		GGACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGGA AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTCC GTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCA GCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGTGT GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAG GCCAAAGTGCAGTGAAAGTGGACAACG CCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATC CGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGC ACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCT GTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAA GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGG GCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTC AACCGGGGCGAGTGC
374		
SEQ ID NO: 70 (объединенная)	HCDR1	GFTFSYNAMS
SEQ ID NO: 71 (объединенная)	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 72 (Kabat)	HCDR1	YNAMS
SEQ ID NO: 71 (Kabat)	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 73 (Chothia)	HCDR1	GFTFSYN
SEQ ID NO: 74 (Chothia)	HCDR2	SGTGGS
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 75 (IMGT)	HCDR1	GFTFSYNA
SEQ ID NO: 76 (IMGT)	HCDR2	ISGTGGST
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 191 (альтернативная)	HCDR1	FTFSYNAMS

SEQ ID NO: 71 (альтернативная)	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 77	VH	EVQLLES GGGLVQP GGS LRLS CAASGFTFS YNAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGTGGSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWGR GTLVTVSS
SEQ ID NO: 78	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAG ACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCT TCTCCTACAACGCCATGTCCTGGGTCCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGG TGTCCTCCATCTCCGGCACCGCGGCTCC ACCTACTACGCCGACTCTGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCCGGACA ACTCCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCC CTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGACT ACTGTGCCAGAGGCGGCCTGTACGGCTC CGGCTCCTACCTGTCCGACTTCGACCTGT GGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGT CTCC
SEQ ID NO: 79	Тяжелая цепь 374.A	EVQLLES GGGLVQP GGS LRLS CAASGFTFS YNAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGTGGSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTL P

		<p>PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGX, где X представляет собой K или отсутствует</p>
<p>SEQ ID NO: 80</p>	<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь 374.A</p>	<p>GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAG ACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCT TCTCCTACAACGCCATGTCCTGGGTCCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGG TGTCCTCCATCTCCGGCACCGGCGGCTCC ACCTACTACGCCGACTCTGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCCGGACAACCTCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCC CTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA ACTGTGCCAGAGGCGGCCTGTACGGCTC CGGCTCCTACCTGTCCGACTTCGACCTGT GGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGTC CTCCGCCTCCACAAAGGGCCCCTCCGTGT TCCCTCTGGCCCCTTGCTCCCGGTCCACC TCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCT CGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGAC CTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGC TGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCC AGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCT GGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTG GACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGG ACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCTGAGT TCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTC CCTCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGA TCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTG GTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCG AAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGG</p>

		<p>CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCT GCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCC AAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCC AAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGA AGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTG ACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTC CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAAC GGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCA CCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCC TTCTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGA CAAGTCCCAGGTGGCAGGAAGGCAACGTC TTCTCCTGTCCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCACTACACCAGAAGTCCCTG TCCCTGTCTCTGGGC $X_1X_2X_3$, где X_1 представляет собой A, X_2 представляет собой A, и X_3 представляет собой G; или X_1 отсутствует, X_2 отсутствует и X_3 отсутствует.</p>
SEQ ID NO: 116	Тяжелая цепь 374.B	<p>EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFS YNAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGTGGSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSYLSDFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPPAPE FEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLT PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTV</p>

		DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGX, где X представляет собой K или отсутствует
SEQ ID NO: 48 (объединенная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (объединенная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (объединенная)	LCDR3	QHNAPFYT
SEQ ID NO: 48 (Kabat)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (Kabat)	LCDR3	QHNAPFYT
SEQ ID NO: 51 (Chothia)	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53 (Chothia)	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54 (IMGT)	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50 (IMGT)	LCDR3	QHNAPFYT
SEQ ID NO: 48 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (альтернативная)	LCDR3	QHNAPFYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQHN AFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 56	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCCAGTCCGT

		<p>GGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCCCTCGGCTGCTGA TCTACGGCGCCTCTACCAGAGCCACCGG CATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCTCC AGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCT TACACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGG AAATCAAG</p>
SEQ ID NO: 57	Легкая цепь	<p>EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQHN AFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC</p>
SEQ ID NO: 58	ДНК, кодирующая легкую цепь	<p>GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCCAGTCCGT GGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCCCTCGGCTGCTGA TCTACGGCGCCTCTACCAGAGCCACCGG CATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCTCC AGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCT TACACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGG AAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTC CGTGTTCATCTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGT GTGCCTGCTGAACAATTCTACCCTCGCG AGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGACAA CGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAA TCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACA</p>

		GCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACC CTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCA GGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCT TCAACCGGGGCGAGTGC
379		
SEQ ID NO: 81 (объединенная)	HCDR1	GFTFSRYAMS
SEQ ID NO: 71 (объединенная)	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38 (Kabat)	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 71 (Kabat)	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 82 (Chothia)	HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 74 (Chothia)	HCDR2	SGTGGS
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 83 (IMGT)	HCDR1	GFTFSRYA
SEQ ID NO: 76 (IMGT)	HCDR2	ISGTGGST
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 192 (альтернативная)	HCDR1	FTFSRYAMS
SEQ ID NO: 71 (альтернативная)	HCDR2	SISGTGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 84	VH	EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFS RYAMSWVRQAPGKLEWVSSISGTGGSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWGR

		GTLVTVSS
SEQ ID NO: 85	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAG ACTGTCTTGCGCCGCCTCCGGCTTACCT TCTCCAGATACGCCATGTCCTGGGTCCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGG TGTCCTCCATCTCCGGCACCGGCGGCTCC ACCTACTACGCCGACTCTGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCCGGGACAACCTCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCC CTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA ACTGTGCCAGAGGCGGCCTGTACGGCTC CGGCTCCTACCTGTCCGACTTCGACCTGT GGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGT CTCC
SEQ ID NO: 86	Тяжелая цепь 379.A	EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFS RYAMSWVRQAPGKLEWVSSISGTGGSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYIQMNSI.RA EDTAVYYCARGGLYGSGLYSDFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLGX, где X представляет собой K или отсутствует
SEQ ID NO: 87	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAAGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAG ACTGTCTTGCGCCGCCTCCGGCTTACCT

	379.A	TCTCCAGATACGCCATGTCCTGGGTCCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGG TGTCTCCATCTCCGGCACCGGCGGCTCC ACCTACTACGCCGACTCTGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCCGGGACAACCTCAA GAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCC CTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACT ACTGTGCCAGAGGCGGCCTGTACGGCTC CGGCTCCTACCTGTCCGACTTCGACCTGT GGGGCAGAGGCACCCTGGTCACCGTGTG CTCCGCCTCCACAAAGGGCCCCCTCCGTGT TCCCTCTGGCCCCCTTGCTCCCGGTCCACC TCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCT CGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTG ACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGAC CTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGC TGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCC AGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCT GGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTG GACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGG ACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCC TCCCTGCCCTCCTTGCCCTGCCCTGAGT TCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTC CCTCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGA TCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTG GTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCG AAGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCT ACCGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCT GCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCTCC AAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCC AAGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGA
--	-------	---

		<p>AGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTG ACTTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTC CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAAC GGCCAGCCCGAGAACAАCTACAAGACCA CCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCC TTCTTCCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTC TTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCACTACACCAGAAGTCCCTG TCCCTGTCTCTGGGC X₁X₂X₃,</p> <p>где X₁ представляет собой А, X₂ представляет собой А, и X₃ представляет собой G; или X₁ отсутствует, X₂ отсутствует и X₃ отсутствует.</p>
SEQ ID NO: 117	Тяжелая цепь 379.B	<p>EVQLLESGLLVQPGGSLRSCAASGFTFS RYAMSWVRQAPGKLEWVSSISGTGGSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSYLSDFDLWGR GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPE FEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGX,</p> <p>где X представляет собой К или отсутствует</p>
SEQ ID NO: 48 (объединенная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (объединенная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50	LCDR3	QQHNAFPYT

(объединенная)		
SEQ ID NO: 48 (Kabat)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (Kabat)	LCDR3	QHNAFPYT
SEQ ID NO: 51 (Chothia)	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53 (Chothia)	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54 (IMGT)	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50 (IMGT)	LCDR3	QHNAFPYT
SEQ ID NO: 48 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (альтернативная)	LCDR3	QHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQHN AFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 56	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCCAGTCCGT GGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCCCTCGGCTGCTGA TCTACGGCGCCTCTACCAGAGCCACCGG CATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCTCC AGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCT TACACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGG

		AAATCAAG
SEQ ID NO: 57	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHN AFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
SEQ ID NO: 58	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTGCTGACACAGTCCCCTGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCAGTCCGT GGGCTCCAACCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCCAGGCCCTCGGCTGCTGA TCTACGGCGCCTCTACCAGAGCCACCGG CATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCTGGCT CCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCTCC AGCCTGCAGTCCGAGGACTTCGCCGTGT ACTACTGCCAGCAGCACAACGCCTTCCCT TACACCTTCGGCGGAGGCACCAAAGTGG AAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCTC CGTGTTTCATCTCCCACCCTCCGACGAGC AGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCGT GTGCCTGCTGAAACAACTTCTACCCTCGCG AGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTGGACAA CGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAA TCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACA GCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGACC CTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCA GGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCT TCAACCGGGGCGAGTGC
376		
SEQ ID NO: 135 (объединенная)	HCDR1	GFTFRSYAMS

SEQ ID NO: 136 (объединенная)	HCDR2	AITGSGGLTYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 137 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 136 (Kabat)	HCDR2	AITGSGGLTYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 138 (Chothia)	HCDR1	GFTFRSY
SEQ ID NO: 139 (Chothia)	HCDR2	TGSGGL
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 140 (IMGT)	HCDR1	GFTFRSYA
SEQ ID NO: 141 (IMGT)	HCDR2	ITGSGGLT
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 193 (альтернативная)	HCDR1	FTFRSYAMS
SEQ ID NO: 136 (альтернативная)	HCDR2	AITGSGGLTYADSVKG
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 142	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFR SYAMSWVRQAPGKLEWVSAITGSGGLTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWGR GTLVTVSS
SEQ ID NO: 143	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCT

		TTCGTAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCAGCTATTACGGGAAGTGGTGGTTTG ACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACT ACTGCGCCAGAGGTGGATTGTACGGAAG CGGAAGCTACTTGAGTGACTIONCGACCTAT GGGGGAGAGGTACCTTGGTCACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 48 (объединенная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (объединенная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (объединенная)	LCDR3	QHNAFPYT
SEQ ID NO: 48 (Kabat)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (Kabat)	LCDR3	QHNAFPYT
SEQ ID NO: 51 (Chothia)	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53 (Chothia)	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54 (IMGT)	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50 (IMGT)	LCDR3	QHNAFPYT
SEQ ID NO: 48 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50	LCDR3	QHNAFPYT

(альтернативная)		
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHN AFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 144	ДНК, кодирующая VL	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGC CACCCCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGT GTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGC AGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCT CATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTG GTATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGG GTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCA GCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTT TATTA CTGTCAGCAGCACAATGCCTTCCC TTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAAA
377		
SEQ ID NO: 145 (объединенная)	HCDR1	GFTFKSYAMS
SEQ ID NO: 146 (объединенная)	HCDR2	AISGSGSYTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 137 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 146 (Kabat)	HCDR2	AISGSGSYTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 147 (Chothia)	HCDR1	GFTFKSY
SEQ ID NO: 148 (Chothia)	HCDR2	SGSGSY
SEQ ID NO: 37	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL

(Chothia)		
SEQ ID NO: 149 (IMGT)	HCDR1	GFTFKSYA
SEQ ID NO: 150 (IMGT)	HCDR2	ISGSGSYT
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 194 (альтернативная)	HCDR1	FTFKSYAMS
SEQ ID NO: 146 (альтернативная)	HCDR2	AISGSGSYTYADSVKG
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 151	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFK SYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGSYTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWGR GTLVTVSS
SEQ ID NO: 152	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATCACCT TTAAGAGCTATGCCATGAGTTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCAGCTATTAGTGAAGTGGTTCGTAT ACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACT ACTGCGCCAGAGGTGGATTGTACGGAAG CGGAAGCTACTTGAGTGACTTCGACCTAT GGGGGAGAGGTACCTTGGTCAACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 48 (объединенная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49	LCDR2	GASTRAT

(объединенная)		
SEQ ID NO: 50 (объединенная)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48 (Kabat)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (Kabat)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51 (Chothia)	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53 (Chothia)	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54 (IMGT)	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50 (IMGT)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (альтернативная)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHN AFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 144	ДНК, кодирующая VL	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGC CACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGT GTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGC AGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCT CATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTG GTATCCCAGCCAGGTTCACTGTCAGTGG GTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCA GCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTT

		TATTACTGTCAGCAGCACAATGCCTTCCC TTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAAA
930		
SEQ ID NO: 153 (объединенная)	HCDR1	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 154 (объединенная)	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 137 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 154 (Kabat)	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 155 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 156 (Chothia)	HCDR2	SGSGGS
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 157 (IMGT)	HCDR1	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 158 (IMGT)	HCDR2	ISGSGGST
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 195 (альтернативная)	HCDR1	FTFSSYAMS
SEQ ID NO: 154 (альтернативная)	HCDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 159	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY

		YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSYLSDFDLWGR GTLVTVSS
SEQ ID NO: 160	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCT TTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGC CAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGC ACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCA GAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTGTACT ACTGCGCCAGAGGTGGATTGTACGGAAG CGGAAGCTACTTGAGTGA CTTCGACCTAT GGGGGAGAGGTACCTTGGTCAACCGTCTC CTCA
SEQ ID NO: 48 (объединенная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (объединенная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (объединенная)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48 (Kabat)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (Kabat)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 51 (Chothia)	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53 (Chothia)	LCDR3	HNAFPY
SEQ ID NO: 54 (IMGT)	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS

SEQ ID NO: 50 (IMGT)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 48 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (альтернативная)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 55	VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYCQQHN AFPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 144	ДНК, кодирующая VL	GAAATAGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAGC CACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGT GTTGGCAGCAACTTAGCCTGGTACCAGC AGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCT CATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTG GTATCCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGG GTCTGGGACAGAGTCACTCTCACCATCA GCAGCCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTT TATTACTGTCAGCAGCACAATGCCTTCCC TTACACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAAA
918		
SEQ ID NO: 161 (объединенная)	HCDR1	GGSISSYYWS
SEQ ID NO: 162 (объединенная)	HCDR2	YIYSSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 3 (объединенная)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 163 (Kabat)	HCDR1	SYYS
SEQ ID NO: 162 (Kabat)	HCDR2	YIYSSGSTNYNPSLKS

SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 164 (Chothia)	HCDR1	GGSISSY
SEQ ID NO: 165 (Chothia)	HCDR2	YSSGS
SEQ ID NO: 3 (Chothia)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 166 (IMGT)	HCDR1	GGSISSYY
SEQ ID NO: 167 (IMGT)	HCDR2	IYSSGST
SEQ ID NO: 9 (IMGT)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 200 (альтернативная)	HCDR1	GSISSYYWS
SEQ ID NO: 162 (альтернативная)	HCDR2	YIYSSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 9 (альтернативная)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 168	VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGIS YYWSWIRQPPGKLEWIGYIYSSGSTNYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCARESQESPYNNWFDPWGQGLVTVS S
SEQ ID NO: 169	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAG GACTGGTGAAGCCTTCGAGACCCTGTC CCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCA TCAGTAGTTACTACTGGAGCTGGATCCGG CAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGA TTGGGTATATCTATAGTAGTGGGAGCACC AACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAG TCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGA CCGCCGACACGCGGTGTACTACTG CGCCAGAGAATCTCAGGAGAGTCCATAC

		AACAATTGGTTCGACCCATGGGGACAGG GTACATTGGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 14 (объединенная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (объединенная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (Kabat)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (Kabat)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 17 (Chothia)	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19 (Chothia)	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16 (IMGT)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 14 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (альтернативная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 21	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQG NSFPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 170	ДНК, кодирующая VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTC CGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTA TTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAG

		AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGG GTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGAT CTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTA TACTGTCAGCAGGGAAACAGTTTCCCTA GGACTTTTGCGGAGGGACCAAGGTTGA GATCAAA
363		
SEQ ID NO: 81 (объединенная)	HCDR1	GFTFSRYAMS
SEQ ID NO: 201 (объединенная)	HCDR2	AISGTGISTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38 (Kabat)	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 201 (Kabat)	HCDR2	AISGTGISTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 82 (Chothia)	HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 202 (Chothia)	HCDR2	SGTGIS
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 83 (IMGT)	HCDR1	GFTFSRYA
SEQ ID NO: 203 (IMGT)	HCDR2	ISGTGIST
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 192 (альтернативная)	HCDR1	FTFSRYAMS
SEQ ID NO: 201 (альтернативная)	HCDR2	AISGTGISTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL

(альтернативная)		
SEQ ID NO: 204	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS RYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGTGISTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWGR GTLVTVSS
SEQ ID NO: 205 (объединенная)	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206 (объединенная)	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207 (объединенная)	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205 (Kabat)	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206 (Kabat)	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207 (Kabat)	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 208 (Chothia)	LCDR1	SQSISSW
SEQ ID NO: 209 (Chothia)	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 228 (Chothia)	LCDR3	SNTFY
SEQ ID NO: 229 (IMGT)	LCDR1	QSISSW
SEQ ID NO: 209 (IMGT)	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 207 (IMGT)	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205 (альтернативная)	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206 (альтернативная)	LCDR2	DASSLES

SEQ ID NO: 207 (альтернативная)	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 230	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS RFGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQS NTFYTFGGGTKVEIK
366		
SEQ ID NO: 81 (объединенная)	HCDR1	GFTFSRYAMS
SEQ ID NO: 231 (объединенная)	HCDR2	AISGTGLSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 38 (Kabat)	HCDR1	RYAMS
SEQ ID NO: 231 (Kabat)	HCDR2	AISGTGLSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 82 (Chothia)	HCDR1	GFTFSRY
SEQ ID NO: 232 (Chothia)	HCDR2	SGTGLS
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 83 (IMGT)	HCDR1	GFTFSRYA
SEQ ID NO: 233 (IMGT)	HCDR2	ISGTGLST
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 192 (альтернативная)	HCDR1	FTFSRYAMS
SEQ ID NO: 231 (альтернативная)	HCDR2	AISGTGLSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 234	VH	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS

		RYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGTGLSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGLYGSGSYLSDFDLWGR GTLVTVSS
SEQ ID NO: 205 (объединенная)	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206 (объединенная)	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207 (объединенная)	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205 (Kabat)	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206 (Kabat)	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207 (Kabat)	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 208 (Chothia)	LCDR1	SQSISSW
SEQ ID NO: 209 (Chothia)	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 228 (Chothia)	LCDR3	SNTFY
SEQ ID NO: 229 (IMGT)	LCDR1	QSISSW
SEQ ID NO: 209 (IMGT)	LCDR2	DAS
SEQ ID NO: 207 (IMGT)	LCDR3	QQSNTFYT
SEQ ID NO: 205 (альтернативная)	LCDR1	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 206 (альтернативная)	LCDR2	DASSLES
SEQ ID NO: 207 (альтернативная)	LCDR3	QQSNTFYT

SEQ ID NO: 230	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS RFGSGSGTEFTLTISLQPDDFATYYCQQS NTFYTFGGGTKVEIK
407		
SEQ ID NO: 235 (объединенная)	HCDR1	GYTFTYYWMH
SEQ ID NO: 236 (объединенная)	HCDR2	SINPNSGSTNYAQKFQG
SEQ ID NO: 237 (объединенная)	HCDR3	DTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 238 (Kabat)	HCDR1	YYWMH
SEQ ID NO: 236 (Kabat)	HCDR2	SINPNSGSTNYAQKFQG
SEQ ID NO: 237 (Kabat)	HCDR3	DTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 239 (Chothia)	HCDR1	GYTFTYY
SEQ ID NO: 240 (Chothia)	HCDR2	NPNSGS
SEQ ID NO: 237 (Chothia)	HCDR3	DTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 241 (IMGT)	HCDR1	GYTFTYYW
SEQ ID NO: 242 (IMGT)	HCDR2	INPNSGST
SEQ ID NO: 243 (IMGT)	HCDR3	ARDTGGDKSPLTYYYYGMDV
SEQ ID NO: 244 (альтернативная)	HCDR1	YTFTYYWMH
SEQ ID NO: 236 (альтернативная)	HCDR2	SINPNSGSTNYAQKFQG
SEQ ID NO: 243	HCDR3	ARDTGGDKSPLTYYYYGMDV

(альтернативная)		
SEQ ID NO: 245	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TYYWMHWVRQAPGQGLEWMGSINPNSGS TNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRL RSDDTAVYYCARDTGGDKSPLTYYYYGM DVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 246 (объединенная)	LCDR1	RASQGISRWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 247 (объединенная)	LCDR3	QQAIALPPFT
SEQ ID NO: 246 (Kabat)	LCDR1	RASQGISRWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 247 (Kabat)	LCDR3	QQAIALPPFT
SEQ ID NO: 248 (Chothia)	LCDR1	SQGISRW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 249 (Chothia)	LCDR3	AIALPPF
SEQ ID NO: 250 (IMGT)	LCDR1	QGISRW
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 247 (IMGT)	LCDR3	QQAIALPPFT
SEQ ID NO: 246 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISRWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 247 (альтернативная)	LCDR3	QQAIALPPFT

SEQ ID NO: 251	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISR WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQA IALPPFTFGGGTKVEIK
893		
SEQ ID NO: 252 (объединенная)	HCDR1	GFTFSSYWMS
SEQ ID NO: 253 (объединенная)	HCDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO: 254 (объединенная)	HCDR3	APEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 255 (Kabat)	HCDR1	SYWMS
SEQ ID NO: 253 (Kabat)	HCDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO: 254 (Kabat)	HCDR3	APEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 155 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 256 (Chothia)	HCDR2	KQDGSE
SEQ ID NO: 254 (Chothia)	HCDR3	APEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 257 (IMGT)	HCDR1	GFTFSSYW
SEQ ID NO: 258 (IMGT)	HCDR2	IKQDGSEK
SEQ ID NO: 259 (IMGT)	HCDR3	ARAPEYYSTTTRLYYYYGMDV
SEQ ID NO: 260 (альтернативная)	HCDR1	FTFSSYWMS
SEQ ID NO: 253 (альтернативная)	HCDR2	NIKQDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO: 259	HCDR3	ARAPEYYSTTTRLYYYYGMDV

(альтернативная)		
SEQ ID NO: 261	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEK YYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARAPEYYSTTTRLYYYYGM DVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 262 (объединенная)	LCDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
SEQ ID NO: 263 (объединенная)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 264 (объединенная)	LCDR3	QQYDAHPFT
SEQ ID NO: 262 (Kabat)	LCDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
SEQ ID NO: 263 (Kabat)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 264 (Kabat)	LCDR3	QQYDAHPFT
SEQ ID NO: 265 (Chothia)	LCDR1	SQSVLYSSNNKNY
SEQ ID NO: 266 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 267 (Chothia)	LCDR3	YDAHPF
SEQ ID NO: 268 (IMGT)	LCDR1	QSVLYSSNNKNY
SEQ ID NO: 266 (IMGT)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 264 (IMGT)	LCDR3	QQYDAHPFT
SEQ ID NO: 262 (альтернативная)	LCDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
SEQ ID NO: 263 (альтернативная)	LCDR2	WASTRES

SEQ ID NO: 264 (альтернативная)	HCDR3	QQYDAHPT
SEQ ID NO: 269	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL YSSNNKNYLAWYQQKPGQPPELLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVA VYYCQQYDAHPTFGGGTKVEIK
939		
SEQ ID NO: 287 (объединенная)	HCDR1	GGTFSSYAIS
SEQ ID NO: 288 (объединенная)	HCDR2	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 289 (объединенная)	HCDR3	HYYDYWSGYTNTGIY
SEQ ID NO: 290 (Kabat)	HCDR1	SYAIS
SEQ ID NO: 288 (Kabat)	HCDR2	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 289 (Kabat)	HCDR3	HYYDYWSGYTNTGIY
SEQ ID NO: 291 (Chothia)	HCDR1	GGTFSSY
SEQ ID NO: 292 (Chothia)	HCDR2	IPIFGT
SEQ ID NO: 289 (Chothia)	HCDR3	HYYDYWSGYTNTGIY
SEQ ID NO: 293 (IMGT)	HCDR1	GGTFSSYA
SEQ ID NO: 294 (IMGT)	HCDR2	IPIFGTA
SEQ ID NO: 295 (IMGT)	HCDR3	ARHYYDYWSGYTNTGIY
SEQ ID NO: 296 (альтернативная)	HCDR1	GTFSSYAIS
SEQ ID NO: 288	HCDR2	GIPIFGTANYAQKFQG

(альтернативная)		
SEQ ID NO: 295 (альтернативная)	HCDR3	ARHYDYWSGYTNTGIY
SEQ ID NO: 297	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF SSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARHYDYWSGYTNTGIYWGQ GTLVTVSS
SEQ ID NO: 298 (объединенная)	LCDR1	RASQSVSSNLA
SEQ ID NO: 49 (объединенная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 299 (объединенная)	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 298 (Kabat)	LCDR1	RASQSVSSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 299 (Kabat)	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 300 (Chothia)	LCDR1	SQSVSSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 301 (Chothia)	LCDR3	SGALPI
SEQ ID NO: 302 (IMGT)	LCDR1	QSVSSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 299 (IMGT)	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 298 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVSSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT

SEQ ID NO: 299 (альтернативная)	LCDR3	QQSGALPIT
SEQ ID NO: 303	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSS NLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQSG ALPITFGGGTKVEIK
430		
SEQ ID NO: 304 (объединенная)	HCDR1	GGFRLRYYS
SEQ ID NO: 305 (объединенная)	HCDR2	EIDHSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 306 (объединенная)	HCDR3	GQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 61 (Kabat)	HCDR1	RYYS
SEQ ID NO: 305 (Kabat)	HCDR2	EIDHSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 306 (Kabat)	HCDR3	GQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 307 (Chothia)	HCDR1	GGFRLRY
SEQ ID NO: 308 (Chothia)	HCDR2	DHSGS
SEQ ID NO: 306 (Chothia)	HCDR3	GQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 309 (IMGT)	HCDR1	GGFRLRY
SEQ ID NO: 310 (IMGT)	HCDR2	IDHSGS
SEQ ID NO: 311 (IMGT)	HCDR3	ARGQNYYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 312 (альтернативная)	HCDR1	GSFRLRYYS
SEQ ID NO: 305 (альтернативная)	HCDR2	EIDHSGSTNYNPSLKS

SEQ ID NO: 311 (альтернативная)	HCDR3	ARGQNYGSGSADGFDP
SEQ ID NO: 313	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSF LRYYSWIRQPPGKGLEWIGEIDHSGSTNY NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARGQNYGSGSADGFDPWGQGT LVTSS
SEQ ID NO: 14 (объединенная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 314 (объединенная)	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 14 (Kabat)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 314 (Kabat)	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 17 (Chothia)	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 315 (Chothia)	LCDR3	ANSFPPT
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 314 (IMGT)	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 14 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 314 (альтернативная)	LCDR3	QQANSFPPT
SEQ ID NO: 316	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISS

		WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA NSFPPTFGGGTKVEIK
398		
SEQ ID NO: 317 (объединенная)	HCDR1	GGSFSGYYWS
SEQ ID NO: 318 (объединенная)	HCDR2	EIDASGSTRYNPSLKS
SEQ ID NO: 319 (объединенная)	HCDR3	PLYDAYLDV
SEQ ID NO: 320 (Kabat)	HCDR1	GYYSWS
SEQ ID NO: 318 (Kabat)	HCDR2	EIDASGSTRYNPSLKS
SEQ ID NO: 319 (Kabat)	HCDR3	PLYDAYLDV
SEQ ID NO: 321 (Chothia)	HCDR1	GGSFSGY
SEQ ID NO: 322 (Chothia)	HCDR2	DASGS
SEQ ID NO: 319 (Chothia)	HCDR3	PLYDAYLDV
SEQ ID NO: 323 (IMGT)	HCDR1	GGSFSGYY
SEQ ID NO: 324 (IMGT)	HCDR2	IDASGST
SEQ ID NO: 325 (IMGT)	HCDR3	ARPLYDAYLDV
SEQ ID NO: 326 (альтернативная)	HCDR1	GSFSGYYWS
SEQ ID NO: 318 (альтернативная)	HCDR2	EIDASGSTRYNPSLKS
SEQ ID NO: 325 (альтернативная)	HCDR3	ARPLYDAYLDV

SEQ ID NO: 327	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIDASGSTRY NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARPLYDAYLDVWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO: 14 (объединенная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 328 (объединенная)	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 14 (Kabat)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 328 (Kabat)	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 17 (Chothia)	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 329 (Chothia)	LCDR3	APIYPI
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 328 (IMGT)	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 14 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 328 (альтернативная)	LCDR3	QQAPIYPIT
SEQ ID NO: 330	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQA PIYPITFGGGTKVEIK

Таблица 2
 Консенсусные последовательности CDR для иллюстративных антител к CD73

Линия 3		
SEQ ID NO: 126 (объединенная)	HCDR1	GFTFX ₁ X ₂ X ₃ AMS, где X ₁ представляет собой H, S, R или K; X ₂ представляет собой R, Y или S; и X ₃ представляет собой Y или N
SEQ ID NO: 89 (объединенная)	HCDR2	X ₁ IX ₂ GX ₃ GX ₄ X ₅ TYADSVKG, где X ₁ представляет собой A или S; X ₂ представляет собой S или T; X ₃ представляет собой S или T; X ₄ представляет собой M, G или S; и X ₅ представляет собой N, S, L или Y
SEQ ID NO: 37 (объединенная)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 48 (объединенная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (объединенная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (объединенная)	LCDR3	QQHNAFPYT
SEQ ID NO: 88 (Kabat)	HCDR1	X ₁ X ₂ AMS, где X ₁ представляет собой R, Y или S; и X ₂ представляет собой Y или N
SEQ ID NO: 89 (Kabat)	HCDR2	X ₁ IX ₂ GX ₃ GX ₄ X ₅ TYADSVKG, где X ₁ представляет собой A или S; X ₂ представляет собой S или T; X ₃ представляет собой S или T; X ₄ представляет собой M, G или S; и X ₅ представляет собой N, S, L или Y
SEQ ID NO: 37 (Kabat)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 48 (Kabat)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (Kabat)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (Kabat)	LCDR3	QQHNAFPYT

SEQ ID NO: 122 (Chothia)	HCDR1	GFTFX ₁ X ₂ X ₃ , где X ₁ представляет собой H, S, R или K; X ₂ представляет собой R, Y или S; и X ₃ представляет собой Y или N
SEQ ID NO: 123 (Chothia)	HCDR2	X ₁ GX ₂ GX ₃ X ₄ , где X ₁ представляет собой S или T; X ₂ представляет собой S или T; X ₃ представляет собой M, G или S; и X ₄ представляет собой N, S, L или Y
SEQ ID NO: 37 (Chothia)	HCDR3	GGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 51 (Chothia)	LCDR1	SQSVGSN
SEQ ID NO: 52 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 53 (Chothia)	LCDR3	HNAPFY
SEQ ID NO: 128 (IMGT)	HCDR1	GFTFX ₁ X ₂ X ₃ A, где X ₁ представляет собой H, S, R или K; X ₂ представляет собой R, Y или S; и X ₃ представляет собой Y или N
SEQ ID NO: 129 (IMGT)	HCDR2	IX ₁ GX ₂ GX ₃ X ₄ T, где X ₁ представляет собой S или T; X ₂ представляет собой S или T; X ₃ представляет собой M, G или S; и X ₄ представляет собой N, S, L или Y
SEQ ID NO: 43 (IMGT)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 54 (IMGT)	LCDR1	QSVGSN
SEQ ID NO: 52 (IMGT)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 50 (IMGT)	LCDR3	QQHNAPFYT
SEQ ID NO: 189 (альтернативная)	HCDR1	FTFX ₁ X ₂ X ₃ AMS, где X ₁ представляет собой H, S, R или K; X ₂ представляет собой R, Y или S; и X ₃ представляет собой Y или N

SEQ ID NO: 89 (альтернативная)	HCDR2	X ₁ IX ₂ GX ₃ GX ₄ X ₅ TYYADSVKG, где X ₁ представляет собой A или S; X ₂ представляет собой S или T; X ₃ представляет собой S или T; X ₄ представляет собой M, G или S; и X ₅ представляет собой N, S, L или Y
SEQ ID NO: 43 (альтернативная)	HCDR3	ARGGLYGSGSYLSDFDL
SEQ ID NO: 48 (альтернативная)	LCDR1	RASQSVGSNLA
SEQ ID NO: 49 (альтернативная)	LCDR2	GASTRAT
SEQ ID NO: 50 (альтернативная)	LCDR3	QQHNAFPYT
Линия 1		
SEQ ID NO: 127 (объединенная)	HCDR1	GGSEX ₁ X ₂ X ₃ YWS, где X ₁ представляет собой E или S; X ₂ представляет собой R, G или S; и X ₃ представляет собой Y или R
SEQ ID NO: 91 (объединенная)	HCDR2	YIYX ₁ X ₂ GSTX ₃ YNPSLKS, где X ₁ представляет собой G или S; X ₂ представляет собой R, S или T; и X ₃ представляет собой N или K
SEQ ID NO: 3 (объединенная)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 14 (объединенная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (объединенная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (объединенная)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 90 (Kabat)	HCDR1	X ₁ X ₂ YWS, где X ₁ представляет собой R, G или S; и X ₂ представляет собой Y или R

SEQ ID NO: 91 (Kabat)	HCDR2	YIYX ₁ X ₂ GSTX ₃ YNPSLKS, где X ₁ представляет собой G или S; X ₂ представляет собой R, S или T; и X ₃ представляет собой N или K
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 14 (Kabat)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (Kabat)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (Kabat)	LCDR3	QQGNSFPRT
SEQ ID NO: 124 (Chothia)	HCDR1	GGSEX ₁ X ₂ X ₃ , где X ₁ представляет собой E или S; X ₂ представляет собой R, G или S; и X ₃ представляет собой Y или R
SEQ ID NO: 125 (Chothia)	HCDR2	YX ₁ X ₂ GS, где X ₁ представляет собой G или S; и X ₂ представляет собой R, S или T
SEQ ID NO: 3 (Chothia)	HCDR3	ESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 17 (Chothia)	LCDR1	SQGISSW
SEQ ID NO: 18 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 19 (Chothia)	LCDR3	GNSFPR
SEQ ID NO: 130 (IMGT)	HCDR1	GGSEX ₁ X ₂ X ₃ Y, где X ₁ представляет собой E или S; X ₂ представляет собой R, G или S; и X ₃ представляет собой Y или R
SEQ ID NO: 131 (IMGT)	HCDR2	IYX ₁ X ₂ GST, где X ₁ представляет собой G или S; и X ₂ представляет собой R, S или T
SEQ ID NO: 9 (IMGT)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 20 (IMGT)	LCDR1	QGISSW
SEQ ID NO: 18 (IMGT)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 16 (IMGT)	LCDR3	QQGNSFPRT

SEQ ID NO: 196 (альтернативная)	HCDR1	GSIX ₁ X ₂ X ₃ YWS, где X ₁ представляет собой E или S; X ₂ представляет собой R, G или S; и X ₃ представляет собой Y или R
SEQ ID NO: 91 (альтернативная)	HCDR2	YIYX ₁ X ₂ GSTX ₃ YNPSLKS, где X ₁ представляет собой G или S; X ₂ представляет собой R, S или T; и X ₃ представляет собой N или K
SEQ ID NO: 9 (альтернативная)	HCDR3	ARESQESPYNNWFDP
SEQ ID NO: 14 (альтернативная)	LCDR1	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 15 (альтернативная)	LCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO: 16 (альтернативная)	LCDR3	QQGNSFPRT

Таблица 26
Соответствующие последовательности зародышевого типа антител к CD73

Антитело	VH зародышевого типа	VL зародышевого типа
918	VH4-59	VK1-12
350	VH4-59	VK1-12
356	VH4-59	VK1-12
358	VH4-59	VK1-12
930	VH3-23	VK3-15
373	VH3-23	VK3-15
374	VH3-23	VK3-15
376	VH3-23	VK3-15
377	VH3-23	VK3-15
379	VH3-23	VK3-15
363	VH3-23	VK1-05
366	VH3-23	VK1-05
407	VH1-02	VK1-12
893	VH3-07	VK4-01
939	VH1-69	VK3-15
430	VH4-34	VK1-12
398	VH4-34	VK1-12

Таблица 3

Аминокислотные последовательности константной области тяжелой цепи IgG человека и легкой каппа-цепи человека

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
92	IgG4 (S228P)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK
93	IgG4 (S228P), не содержащий С-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG
94	IgG4 (S228P/L235E)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK
95	IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW

	(S228P/L235E), не содержащий С-концевого лизина	NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFEGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG
119	IgG1 дикого типа	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
120	IgG1 дикого типа, не содержащий С- концевого лизина	ASTKGPSVFPIAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
96	IgG1 дикого типа	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

97	IgG1 дикого типа, не содержащий С-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
98	IgG1 (N297A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
99	IgG1 (N297A), не содержащий С-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
100	IgG1 (D265A/P329A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS

		LSLSPGK
101	IgG1 (D265A/P329A) , не содержащий С- концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
102	IgG1 (L234A/L235A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
103	IgG1 (L234A/L235A) , не содержащий С- концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
104	Константная область каппа- цепи человека	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Таблица 4
Иллюстративные последовательности CD73

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
105	CD73 человека	MCPRARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTN

	(Q6NZX3)	DVHSRLEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQI RRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMN ALRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKPILSA NIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEVVGVGYTSK ETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLTNLVNVKIIA LGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSNTFLYTGN PPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYL YLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKW RIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLI CDAMINNNLRHADETFWNHVSMLNNGGGIRSPIDE RNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFE HSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGRVVKL DVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVLNPNFLANGGDGF QMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYPAVEG RIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ
106	Изоформа CD73 человека (P21589-1)	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTN DVHSRLEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQI RRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMN ALRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKPILSA NIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEVVGVGYTSK ETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLTNLVNVKIIA LGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSNTFLYTGN PPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQAYAFGKYL YLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKW RIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLI CDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMILNNGGGIRSPIDE RNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFE HSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLSRKPGRVVKL DVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVLNPNFLANGGDGF QMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYPAVEG RIKFSTGSHCHGSFSLIFLSLWAVIFVLYQ
107	Изоформа CD73 человека (P21589-2)	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTN DVHSRLEQTSSEDSSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQI RRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMN ALRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKPILSA

		NIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEVVGVGYTSK ETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKLTNLVNVKIIA LGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSNTFLYTGN PPSKEVPAGKYPFIVTSDDGGRKVPVVQAYAFGKYL YLKIEFDERGNVISSHGPNILLNSSIPEDPSIKADINKW RIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRFCNMGNLI CDAMINNNLRHTDEMFWNHVSMCILNGGGIRSPIDE RNNGIHVVYDLRKPGRVVKLDVLCVKCRVPSYDP LKMDEVYKVLNPNFLANGGDGFQMIKDELLRHDSGD QDINVVSTYISKMKVIYPAVEGRIKFSTGSHCHGSFSL IFLSLWAVIFVLYQ
108	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105)	YLPYKVLPGDEVVVG
109	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105)	KLKTLNVNKI
110	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 368-387 из SEQ ID NO: 105)	MINNNLRHADETFWNHVSMC
121	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 368-387 из SEQ ID NO: 106)	MINNNLRHTDEMFWNHVSMC
111	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105)	YQGTIWFTVYKGAEVAHF
118	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 297-309 из SEQ ID NO: 105)	RGNVISSHGPNIL

134	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105)	WELTILHTNDVHSRLEQTSSESSKCVNASRCMGGVA RLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKG AEVAHFMNALRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLK EAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEV VGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKL KTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGH SNTFLYTGNNPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQA YAFGKYLGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDP SIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRF RECNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMLCN GGGIRSPIDERNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLK GSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLR KPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVLPN FLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKM KVIYPAVEGRIK
171	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105), слитый с 6-His-меткой на С- конце (SEQ ID NO: 922)	WELTILHTNDVHSRLEQTSSESSKCVNASRCMGGVA RLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKG AEVAHFMNALRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLK EAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEV VGIVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKL KTLNVNKIIALGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGH SNTFLYTGNNPSKEVPAGKYPFIVTSDDGRKVPVVQA YAFGKYLGYLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDP SIKADINKWRIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRF RECNMGNLICDAMINNNLRHADETFWNHVSMLCN GGGIRSPIDERNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLK GSTLKKAFEHSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLR KPGDRVVKLDVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVLPN FLANGGDGFQMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKM KVIYPAVEGRIKHHHHH
332	Фрагмент CD73 (диапазон остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105), слитый с 6-His-меткой на С-	MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTN DVHSRLEQTSSESSKCVNASRCMGGVARLFTKVQQI RRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWFTVYKGAEVAHFMN ALRYDAMALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSA NIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEVVGIVGYTSK

	конец (SEQ ID NO: 922), содержащий сигнальный пептид	ETPFLSNPGTNLVFEDEITALQPEVDKCLKTLNVNKIIA LGHSGFEMDKLIAQKVRGVDVVVGGHSNTFLYTGN PPSKEVPAGKYPIVTSDDGRKVPVQAYAFGKYL YLKIEFDERGNVISSHGNPILLNSSIPEDPSIKADINKW RIKLDNYSTQELGKTIVYLDGSSQSCRFRECNMGNLI CDAMINNNLRHADETFWNHVSMLNCGGIRSPIDE RNNGTITWENLAAVLPFGGTFDLVQLKGSTLKKAFE HSVHRYGQSTGEFLQVGGIHVVYDLRKPGRVVKL DVLCTKCRVPSYDPLKMDEVYKVLNPLANGGDGF QMIKDELLRHDSGDQDINVVSTYISKMKVIYPAVEG RIKHHHHHH
--	--	--

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител способны связываться с CD73 человека с константой диссоциации (KD), составляющей менее чем приблизительно 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, которую, например, измеряют с помощью систем Biacore, Octet, проточной цитометрии или ELISA.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела связывается с CD73 млекопитающего, например, человека или макака-крабоеда. Например, молекула антитела связывается с эпитопом, например, линейным или конформационным эпитопом (например, описанным в данном документе эпитопом) на CD73. В определенных аспектах предпочтительной является идентификация антитела, которое с высокой аффинностью связывается с гомологами представляющего интерес белка человека и макака-крабоеда. Данная требуемая перекрестная реактивность обеспечивает возможность исследовать одно и то же антитело (или два антитела с одинаковыми CDR или вариабельными областями) на животной модели и затем вводить пациентам-людям в качестве терапевтического средства.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта выделенная молекула антитела, которая конкурирует за связывание с CD73 человека с вышеупомянутыми молекулами антител к CD73.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта выделенная молекула антитела, которая связывается с тем же эпитопом, по сути тем же эпитопом, с перекрывающимся эпитопом, или по сути перекрывающимся эпитопом, что и вышеупомянутые молекулы антител к CD73.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела связывается с N-концевым доменом CD73 человека. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела связывается с A-петлей и/или B-петлей CD73 человека. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела при связывании с CD73 человека, индуцирует конформационное изменение в C-петле CD73 человека.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, например, способа, применяемого на фиг. 14 и 15. Репрезентативные данные показаны на фиг. 14 и 15. В некоторых вариантах осуществления водородно-дейтериевый обмен уменьшается на по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, или 90%.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 106, при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 106, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к большему уменьшению водородно-дейтериевого обмена по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, чем по остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной температуре, например, способа, применяемого на фиг. 14 и 15. Репрезентатив-

из SEQ ID NO: 105 является по меньшей мере 1,2-кратным, 1,3-кратным, 1,4-кратным, 1,5-кратным, 1,6-кратным, 1,7-кратным, 1,8-кратным, 1,9-кратным, 2-кратным, 2,5-кратным, 3-кратным, 3,5-кратным или 4-кратным относительно уменьшения водородно-дейтериевого обмена по остаткам 206-215, остаткам 368-387 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена по остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 106 в большей степени, чем по остаткам 206-215, остаткам 368-387 или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 106, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной температуре.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), способна обеспечивать уменьшение водородно-дейтериевый обмен в одной или нескольких областях CD73 человека, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 105, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной температуре, например, способа, применяемого на фиг. 14 и 15. Репрезентативные данные показаны на фиг. 14 и 15.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 106, способна обеспечивать уменьшение водородно-дейтериевый обмен в одной или нескольких областях CD73 человека, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 106, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среди одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ ID NO: 106, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной температуре.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной температуре, например, способа, применяемого на фиг. 14 и 15. Репрезентативные данные показаны на фиг. 14 и 15.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), приводит к снижению уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющему менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7,5 и комнатной температуре, например, способа, применяемого на фиг. 14 и 15. Репрезентативные данные показаны на фиг. 14 и 15.

В некоторых вариантах осуществления представлена молекула антитела, которая связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73 и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73, например, при исследовании с применением эксклюзионной хроматографии, например, при исследовании с применением способа, описанного в данном документе, например, способа, применяемого на фиг. 17A и 17B.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта композиция, содержащая несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из молекул антитела во множестве содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, по меньшей мере 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или 80% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием ком-

плекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антител), например, при исследовании с применением способа, описанного в данном документе, например, способа, применяемого на фиг. 17А, 17В, 18А и 18В. Репрезентативные данные показаны на фиг. 17А, 17В, 18А и 18В.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыто несколько молекул антитела, которые связываются с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105 (например, каждый мономер состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), при этом, если каждая из молекул антитела во множестве содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен, не более 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, или 70% молекул антитела в указанной композиции связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекул антитела и два или более димера CD73, например, при измерении с применением эксклюзионной хроматографии, и процентное значение получают путем определения количества молекул антитела в комплексе по отношению к общему количеству молекул антитела, связывающихся с CD73 (исключая несвязанные молекулы антител), например, при исследовании с применением способа, описанного в данном документе, например, способа, применяемого на фиг. 17А, 17В, 18А и 18В. Репрезентативные данные показаны на фиг. 17А, 17В, 18А и 18В.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 после связывания с CD73 человека не приводит к олигомеризации CD73 человека.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела предпочтительно связывается с CD73 в открытой конформации, например в каталитически неактивной конформации, а не с CD73 в закрытой конформации, например в каталитически активной конформации, например не связывается или связывается с CD73 в закрытой конформации, например с CD73 в каталитически активной конформации, с более низкой аффинностью, например с аффинностью, которая ниже на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, или 99%, чем при связывании молекулы антитела с CD73 в открытой конформации, например каталитически неактивной конформации.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 обеспечивает предотвращение превращения CD73 человека из каталитически неактивной открытой конформации в каталитически активную закрытую конформацию или уменьшение его уровня. В некоторых вариантах осуществления уровень превращения CD73 человека из каталитически неактивной открытой конформации в каталитически активную закрытую конформацию уменьшается в по меньшей мере 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз по сравнению с уровнем превращения в отсутствие молекулы антитела.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 взаимодействует, например прямо или косвенно с по меньшей мере одним остатком в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 взаимодействует, например прямо или косвенно с по меньшей мере одним остатком в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 взаимодействует, например прямо или косвенно с по меньшей мере одним остатком в пределах остатков 368-387 из SEQ ID NO: 105. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 взаимодействует, например прямо или косвенно с по меньшей мере одним остатком в пределах остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 взаимодействует, например прямо или косвенно с по меньшей мере одним остатком в пределах остатков 368-387 из SEQ ID NO: 106.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 ингибирует или обеспечивает уменьшение ферментативной активности CD73 (например, растворимого CD73 человека или мембраносвязанного CD73 человека), например, опосредованного CD73 человека превращения аденозинмонофосфата (АМР) в аденозин, что, например, измеряют с помощью способа, описанного в данном документе, например с помощью количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым (МГ) или модифицированного анализа Cell Titer Glo (СТГ), например, способа, применяемого на фиг. 2В, 3А, 3В, 3С, 4, 5, 6, 7А, 7В, 7С, 8А, 8В, 9А, 9В, 10, 11А, 11В или 13. Репрезентативные данные показаны на фиг. 2В, 3А, 3В, 3С, 4, 5, 6, 7А, 7В, 7С, 8А, 8В, 9А, 9В, 10, 11А, 11В и 13. В некоторых вариантах осуществления ферментативная активность CD73 (например, растворимого CD73 человека или мембраносвязанного CD73 человека) уменьшается на по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, или 99%.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела к CD73 обеспечивает увеличение уровня пролиферации Т-клеток, стимулированных антителом к CD3/антителом к CD28, например Т-клеток CD4+, в присутствии аденозинмонофосфата (АМР), что, например, измеряют с помощью описанного в данном документе способа, например, с помощью анализа пролиферации клеток CellTrace Violet (СТВ), например, способа, применяемого на фиг. 12А или 12В. Репрезентативные данные показаны на фиг. 12А

и 12В. В некоторых вариантах осуществления, пролиферация Т-клеток, стимулированных посредством антител к CD3/антител к CD28, например, Т-клеток CD4+, увеличена по меньшей мере 2-кратно, 3-кратно, 4-кратно, 5-кратно, 6-кратно, 7-кратно, 8-кратно, 9-кратно или 10-кратно.

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую любую из вышеупомянутых молекул антитела, векторы и их клетки-хозяева. Молекула нуклеиновой кислоты включает без ограничения РНК, геномную ДНК и cDNA.

В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота кодирует переменную область тяжелой цепи антитела, переменную область легкой цепи, тяжелую цепь и/или легкую цепь любой из вышеупомянутых молекул антитела.

В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота кодирует переменную область тяжелой цепи, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 45, 78, 85, 143, 152, 160, 67, 32, 11, или 169, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 45, 78, 85, 143, 152, 160, 67, 32, 11, или 169.

В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота кодирует тяжелую цепь, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 47, 80, 87, 69, 34, или 13, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 47, 80, 87, 69, 34, или 13.

В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота кодирует переменную область легкой цепи, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 56, 144, 22 или 170 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 56, 144, 22 или 170.

В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота кодирует легкую цепь, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 58 или 24 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 58 или 24.

Фармацевтические композиции и наборы

В некоторых аспектах в настоящем изобретении предусмотрены композиции, например, фармацевтически приемлемые композиции, которые содержат описанную в данном документе молекулу антитела к CD73, составленную вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает все без исключения растворители, дисперсионные среды, изотонические и замедляющие абсорбцию средства и т. п., которые являются физиологически совместимыми. Носитель может быть подходящим для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, ректального, спинального или эпидермального введения (например, посредством инъекции или инфузии).

Композиции, представленные в данном документе, могут находиться в различных формах. Они включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, растворы для инъекции или инфузии), дисперсии или суспензии, липосомы и суппозитории. Подходящая форма зависит от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. Обычные подходящие композиции находятся в форме растворов для инъекции или инфузии. Один подходящий способ введения представляет собой парентеральный (например, внутривенный, подкожный, внутривентриальный, внутримышечный). В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела вводят с помощью внутривенной инфузии или инъекции. В определенных вариантах осуществления антитело вводят с помощью внутримышечной или подкожной инъекции.

Фразы "парентеральное введение" и "вводимый парентерально", используемые в данном документе, относятся к способам введения, отличным от энтерального и местного введения, обычно с помощью инъекции, и включают без ограничения внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интраостеальную, интракапсульную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутривентриальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, подкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

Терапевтические композиции, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях производства и хранения. Композиция может быть составлена в виде раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации антитела. Стерильные инъекционные растворы можно получать путем включения активного соединения (т. е. антитела или части антитела) в требуемом количестве в соответствующий растворитель с одним из перечисленных выше ингредиентов или с комбинацией таковых, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрованием. Как правило, дисперсии получают путем включения активного соединения в стерильную среду-носитель, которая содержит основную дисперсионную среду и другие требуемые ингредиенты из тех, что перечислены выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов предпочтительными способами получения являются вакуумная сушка и лиофилизация, которые дают в результате порошок из активного ингредиента и любого дополнительного

желаемого ингредиента из их раствора, ранее стерилизованного фильтрацией. Надлежащую текучесть раствора можно поддерживать, например, путем применения покрывающего средства, такого как лецитин, с помощью поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Продолжительное всасывание инъекционных композиций могут обеспечивать включением в композицию средства, которое замедляет всасывание, например, моностеаратных солей и желатина.

Молекулу антитела можно вводить с помощью ряда способов. Несколько способов известны из уровня техники, и для многих терапевтических применений подходящим путем/способом введения является внутривенная инъекция или инфузия. В одном варианте осуществления молекулы антител можно вводить путем внутривенной инфузии со скоростью более 20 мг/мин, например, 20-40 мг/мин. В одном варианте осуществления молекулы антител можно вводить путем внутривенной инфузии со скоростью, превышающей или равной 40 мг/мин, для достижения дозы от приблизительно 35 до 440 мг/м², от приблизительно 70 до 310 мг/м² или от приблизительно 110 до 130 мг/м². В варианте осуществления молекулы антител можно вводить с помощью внутривенной инфузии со скоростью менее 10 мг/мин, например, равной 5 мг/мин или меньше, с достижением дозы от приблизительно 1 до 100 мг/м², например, от приблизительно 5 до 50 мг/м², от приблизительно 7 до 25 мг/м² или приблизительно 10 мг/м². Как будет понятно специалисту в данной области техники, путь и/или способ введения будут варьироваться в зависимости от необходимых результатов. В определенных вариантах осуществления активное соединение может быть получено с носителем, который будет защищать соединение от быстрого высвобождения, например, состав с контролируемым высвобождением, в том числе имплантаты, трансдермальные пластыри и микроинкапсулированные системы доставки. Можно применять биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфир и полимолочная кислота. Многие способы получения таких составов запатентованы или общеизвестны для специалистов в данной области техники. См., например, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела можно вводить перорально, например, с помощью инертного разбавителя или усвояемого съедобного носителя. Молекулу антитела (и другие ингредиенты, если необходимо) также можно заключать в желатиновую капсулу с твердой или мягкой оболочкой, спрессовывать в таблетки или вводить непосредственно в рацион субъекта. Для перорального терапевтического введения молекулу антитела можно вводить со вспомогательными веществами и применять в форме проглатываемых таблеток, буккальных таблеток, пастилок, капсул, настоек, суспензий, сиропов, пластинок и т. п. Для введения молекулы антитела по настоящему изобретению путем, отличным от парентерального, может потребоваться покрытие соединения или совместное введение соединения с материалом для предотвращения его инактивации. Терапевтические композиции также можно вводить с помощью медицинских устройств, известных из уровня техники.

Схемы дозирования корректируют для обеспечения требуемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, можно вводить одну болюсную дозу, можно вводить несколько разделенных доз в течение некоторого времени, или дозу можно пропорционально снижать или увеличивать в соответствии с потребностями терапевтической ситуации. Особенно предпочтительным является составление композиций для парентерального применения в виде единичной лекарственной формы для удобства введения и однородности дозирования. Единичная лекарственная форма, как используется в данном документе, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъектов, подлежащих лечению; при этом каждая единица содержит предварительно определенное количество активного соединения, рассчитанное для получения требуемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Параметры единичных дозированных форм продиктованы и непосредственно зависят от (а) уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, который должен быть достигнут, и (б) ограничений, свойственных в данной области техники в отношении составления такого активного соединения для лечения чувствительности у индивидуумов.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, раскрытую в данном документе, вводят путем инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе (например, фиксированной дозе) от приблизительно 60 мг до 2400 мг, например, от приблизительно 100 мг до 2400 мг, от приблизительно 100 мг до 2200 мг, от приблизительно 100 мг до 2000 мг, от приблизительно 100 мг до 1800 мг, от приблизительно 100 мг до 1600 мг, от приблизительно 100 мг до 1400 мг, от приблизительно 100 мг до 1200 мг, от приблизительно 100 мг до 1000 мг, от приблизительно 100 мг до 800 мг, от приблизительно 100 мг до 600 мг, от приблизительно 100 мг до 400 мг, от приблизительно 100 мг до 200 мг или приблизительно 100 мг, приблизительно 180 мг или приблизительно 200 мг. Схема введения доз (например, схема введения фиксированных доз) может варьироваться, например, от одного раза в неделю до одного раза в 2, 3 или 4 недели. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73, раскрытую в данном документе, вводят в дозе от приблизительно 100 мг до 200 мг раз в неделю, раз в две недели или раз в три недели. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73, раскрытую в данном документе, вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 180 мг раз в две недели.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, раскрытую в данном документе, вводят посредством инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе (например, фиксированной дозе) от приблизительно 5 мг до 100 мг, от приблизительно 100 мг до 500 мг, от приблизительно 500 мг до 1000 мг, от приблизительно 1000 мг до 1500 мг, от приблизительно 1500 мг до 2000 мг, от приблизительно 2000 мг до 2500 мг, от приблизительно 2500 мг до 3000 мг, от приблизительно 3000 мг до 3500 мг или от приблизительно 3500 мг до 4000 мг, например, раз в неделю (QW), раз в две недели (Q2W) или раз в четыре недели (Q4W). В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 6 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 2400 мг, приблизительно 3000 мг или приблизительно 3600 мг, например QW, Q2W или Q4W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 60 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 200 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 600 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 1200 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 2400 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 3000 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 3600 мг Q2W.

В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73, раскрытую в данном документе, вводят, например путем инфузии, в течение периода времени 30 минут, периода времени 1 час или периода времени не более 2 часов.

Иллюстративный неограничивающий диапазон для терапевтически или профилактически эффективного количества молекулы антитела составляет 0,1-30 мг/кг, более предпочтительно 1-25 мг/кг. Дозировки и терапевтические схемы приема молекулы антитела к CD73 могут быть определены специалистом в данной области техники. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят путем инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе от приблизительно 1 до 40 мг/кг, например от 1 до 30 мг/кг, например, от приблизительно 5 до 25 мг/кг, от приблизительно 10 до 20 мг/кг, от приблизительно 1 до 5 мг/кг, от 1 до 10 мг/кг, от 5 до 15 мг/кг, от 10 до 20 мг/кг, от 15 до 25 мг/кг или приблизительно 3 мг/кг. Схема введения доз может варьировать от, например, раза в неделю до раза в 2, 3 или 4 недели. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в дозе от приблизительно 10 до 20 мг/кг раз в две недели. Молекулу антитела можно вводить с помощью внутривенной инфузии со скоростью более 20 мг/мин., например, 20-40 мг/мин., например, равной 40 мг/мин. или больше, с достижением дозы от приблизительно 35 до 440 мг/м², от приблизительно 70 до 310 мг/м или от приблизительно 110 до 130 мг/м². В вариантах осуществления при скорости инфузии приблизительно 110-130 мг/м² достигается уровень приблизительно 3 мг/кг. В других вариантах осуществления молекулу антитела можно вводить с помощью внутривенной инфузии со скоростью менее 10 мг/мин., например, равной 5 мг/мин. Или меньше, с достижением дозы от приблизительно 1 до 100 мг/м², например, от приблизительно 5 до 50 мг/м², от приблизительно 7 до 25 мг/м² или приблизительно 10 мг/м². В некоторых вариантах осуществления антитело вводят в течение периода приблизительно 30 мин. Следует отметить, что значения дозировки могут варьироваться в зависимости от типа и тяжести состояния, которое подлежит облегчению. Следует также понимать, что для любого конкретного субъекта конкретные схемы дозирования следует корректировать во времени в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным решением лица, осуществляющего или контролирующего введение композиций, и что диапазоны дозирования, указанные в данном документе, являются лишь иллюстративными и не предназначены для ограничения объема или практического применения заявленной композиции.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут содержать "терапевтически эффективное количество" или "профилактически эффективное количество" молекулы антитела по настоящему изобретению. "Терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество модифицированного антитела или фрагмента антитела может варьироваться в соответствии с такими факторами, как стадия заболевания, возраст, пол и вес индивидуума, и способностью антитела и части антитела вызывать необходимый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой такое, при котором благоприятные эффекты превосходят любые токсичные или пагубные эффекты молекулы антитела. "Терапевтически эффективная доза" предпочтительно обеспечивает ингибирование измеряемого параметра на по меньшей мере приблизительно 20%, более предпочтительно на по меньшей мере приблизительно 40%, еще более предпочтительно на по меньшей мере приблизительно 60% и еще более предпочтительно на по меньшей мере приблизительно 80% по сравнению с субъектами, не подвергавшимися лечению. Измеряемым параметром может быть, например, скорость роста опухоли или скорость роста патогена. Способность молекулы антитела ингибировать измеряемый параметр может быть оценена в системе, представляющей собой животную модель, обеспечивающей возможность прогнозирования эффективности при соответст-

вующем заболевании человека. В качестве альтернативы это свойство композиции можно оценить, исследуя способность соединения к ингибированию, например, ингибированию в анализах *in vitro*, известных специалисту-практику.

"Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого профилактического результата. Как правило, поскольку профилактическую дозу применяют у субъектов до возникновения заболевания или на более ранней его стадии, то профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество.

Также в объем настоящего изобретения входит набор, содержащий молекулу антитела, описанную в данном документе. Набор может содержать один или несколько других элементов, в том числе инструкции по применению; другие реагенты, например, метку, терапевтическое средство или средство, пригодное для хелатирования или иного объединения, антитело к метке или терапевтическому средству или радиозащитную композицию; устройства или другие материалы для подготовки молекулы антитела к введению; фармацевтически приемлемые носители; и устройства или другие материалы для введения субъекту.

Пути применения молекул антитела к CD73

Молекулы антител к CD73, раскрытые в данном документе, имеют диагностические, а также терапевтические и профилактические свойства *in vitro* и *in vivo*. Например, данные молекулы можно вводить в клетки в культуре *in vitro* или *ex vivo* или субъекту, например, субъекту, представляющему собой человека, для лечения, предупреждения и/или диагностики различных нарушений, таких как виды рака и инфекционные нарушения.

Соответственно, в одном аспекте настоящее изобретение предусматривает способ модификации иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту молекулы антитела, описанной в данном документе, так что иммунный ответ у субъекта модифицируется. В одном варианте осуществления иммунный ответ усиливается, стимулируется или регулируется с повышением. В одном варианте осуществления молекулы антитела обеспечивают усиление иммунного ответа у субъекта посредством блокады CD73.

Используемый в данном документе термин "субъект" предназначен для обозначения человека и животных, отличных от человека. В одном варианте осуществления субъект является субъектом, представляющим собой человека, например, пациентом-человеком, имеющим нарушение или состояние, характеризующееся аномальным функционированием CD73. Термин "животные, отличные от человека" включает млекопитающих и отличных от млекопитающих животных, таких как приматы, отличные от человека. В одном варианте осуществления субъектом является человек. В одном варианте осуществления субъект представляет собой пациента-человека, нуждающегося в усилении иммунного ответа. В одном варианте осуществления субъект страдает иммунной недостаточностью, например, субъект подвергается или подвергся лечению с помощью химиотерапии и/или лучевой терапии. В качестве альтернативы или в комбинации с этим субъект страдает иммунной недостаточностью или подвержен риску ее возникновения в результате инфекции. Способы и композиции, описанные в данном документе, подходят для лечения пациентов-людей, имеющих нарушение, которое можно лечить путем усиления опосредованного Т-клетками иммунного ответа. Например, способы и композиции, описанные в данном документе, могут усиливать ряд иммунных активностей. В одном варианте осуществления субъект имеет повышенное количество или активность опухоль-инфильтрующих Т-лимфоцитов (ТИЛ).

Пути терапевтического применения

Рак

В одном аспекте настоящее изобретение относится к лечению субъекта *in vivo* с применением молекулы антитела к CD73, благодаря чему ингибируется или уменьшается рост раковых опухолей. Антитело к CD73 можно применять в отдельности для ингибирования роста раковых опухолей. В качестве альтернативы, антитело к CD73 можно применять в комбинации с одним или несколькими из стандартного лечения (например, при видах рака), другой молекулы антитела, иммуномодулятора (например, активатора костимулирующей молекулы или ингибитора коингибирующей молекулы); вакцины, например, терапевтической противораковой вакцины; или других форм клеточной терапии, как описано ниже.

Соответственно, в одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способ подавления роста опухолевых клеток у субъекта, который предусматривает введение субъекту терапевтически эффективного количества молекулы антитела к CD73, раскрытой в данном документе.

В одном варианте осуществления способы являются подходящими для лечения рака *in vivo*. Для достижения антигенспецифического усиления иммунитета молекулу антитела к CD73 можно вводить вместе с представляющим интерес антигеном. Когда антитела к CD73 вводят в комбинации с одним или более средствами, комбинацию можно вводить в любом порядке или одновременно.

Типы рака

В другом аспекте предусмотрен способ лечения субъекта, например, уменьшения интенсивности или облегчения гиперпролиферативного состояния или нарушения (например, рака), например, солидной опухоли, гематологического рака, опухоли мягких тканей или метастатического поражения у субъекта.

Способ предусматривает введение субъекту одной или нескольких молекул антитела к CD73, описанных в данном документе, отдельно или в комбинации с другими средствами или терапевтическими способами.

Используемый в данном документе термин "рак" подразумевается как включающий все типы злокачественных образований или онкогенных процессов, метастатических тканей или злокачественно трансформированных клеток, тканей или органов независимо от гистопатологического типа или стадии инвазивности. Примеры злокачественных нарушений включают без ограничения солидные опухоли, гематологические виды рака, опухоли мягких тканей и метастатические поражения. Примеры солидных опухолей включают злокачественные новообразования, например, формы саркомы и карциномы (включая формы аденокарциномы и плоскоклеточной карциномы), различных систем органов, такие как злокачественные новообразования, поражающие печень, легкое, молочную железу, лимфоидную ткань, желудочно-кишечный тракт (например, толстую кишку), мочеполовой тракт (например, клетки почки, уретерия), предстательную железу и глотку. Формы аденокарциномы включают злокачественные новообразования, такие как большинство форм рака толстой кишки, рак прямой кишки, почечно-клеточная карцинома, рак печени, мелкоклеточная карцинома легкого, рак тонкого кишечника и рак пищевода. Формы плоскоклеточной карциномы включают злокачественные новообразования, например, в легком, пищеводе, коже, области головы и шеи, полости рта, анальном отверстии и шейке матки. В одном варианте осуществления рак представляет собой меланому, например, меланому на поздней стадии. Метастатические поражения вышеупомянутых форм рака также можно лечить или предупреждать с применением способов и композиций по настоящему изобретению.

Иллюстративные онкозаболевания, рост которых можно подавлять с применением молекул антитела, раскрытых в данном документе, включают виды рака, как правило, отвечающие на иммунотерапию. Неограничивающие примеры предпочтительных видов рака для лечения включают меланому (например, метастатическую злокачественную меланому), рак почки (например, светлоклеточную карциному), рак предстательной железы (например, гормонально-рефрактерную аденокарциному предстательной железы), рак молочной железы, рак толстой кишки и рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого). Дополнительно рефрактерные или рецидивирующие злокачественные опухоли можно лечить с помощью молекул антитела, описанных в данном документе.

Примеры других видов рака, которые можно лечить, включают рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, кожную или внутриглазную злокачественную меланому, рак матки, рак яичника, рак прямой кишки, рак анального канала, рак желудка и пищевода, рак желудка, рак яичка, рак матки, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, рак из клеток Меркеля, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, рак пищевода, рак тонкого кишечника, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечника, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, хроническую или острую формы лейкоза, включая острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарную лимфому, рак мочевого пузыря, множественную миелому, миелодиспластические синдромы, рак почки или мочеточника, карциному почечной лоханки, неоплазию центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, ангиогенез опухоли, опухоль спинного мозга, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, виды рака, вызванные влиянием окружающей среды, включая виды рака, вызванные влиянием асбеста (например, мезотелиома), и комбинации указанных видов рака.

В некоторых вариантах осуществления средства терапии, представленные в данном документе, можно применять для лечения пациента, у которого имеется (или который идентифицирован как имеющий) рак, связанный с инфекцией, например, вирусной или бактериальной инфекцией. Иллюстративные виды рака включают рак шейки матки, рак анального канала, HPV-ассоциированный плоскоклеточный рак головы и шеи, HPV-ассоциированные папилломы пищевода, HHV6-ассоциированные лимфомы, EBV-ассоциированные виды лимфомы (в том числе лимфома Беркитта), MALT-лимфома ЖКТ, другие виды MALT-лимфомы, связанные с инфекцией, НСС и саркому Капоши.

В других вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование или рак, включающий без ограничения лейкоз или лимфому. Например, молекулу антитела к CD73 можно применять для лечения видов рака и злокачественных новообразований, включая без ограничения, например, виды острого лейкоза, включая без ограничения, например, В-клеточный острый лимфоидный лейкоз ("BALL"), Т-клеточный острый лимфоидный лейкоз ("TALL"), острый лимфоидный лейкоз (ALL); один или несколько видов хронического лейкоза, включая без ограничения, например, хронический миелолейкоз (СМЛ), хронический лимфолейкоз (СЛЛ); дополнительные гематологические виды рака или гематологические состояния, включая без ограничения, например, В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, бластное плазмцитозидное дендритное клеточное новообразование, лимфому Беркитта, диффузную В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лейкоз ворсистых клеток, мелкоклеточную или крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, MALT-лимфому, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому маргинальной зоны,

множественную миелому, миелодисплазию и миелодиспластический синдром, неходжкинскую лимфому, плазмобластную лимфому, плазмцитойдное дендритное клеточное новообразование, макроглобулинемию Вальденстрема и "предлейкоз", которые представляют собой разнообразную совокупность гематологических состояний, объединенных неэффективной выработкой (или дисплазией) миелоидных клеток крови, и т. п.

В одном варианте осуществления рак выбран из рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) (например, NSCLC с плоскоклеточной и/или неплоскоклеточной гистологией или аденокарциномы NSCLC)), меланомы (например, меланомы на поздней стадии), рака почки (например, почечно-клеточной карциномы, например, светлоклеточной почечно-клеточной карциномы), рака печени, миеломы (например, множественной миеломы), рака предстательной железы, рака молочной железы (например, рака молочной железы, при котором не экспрессируются один, два или все из рецептора эстрогена, рецептора прогестерона или Her2/neu, например, трижды негативного рака молочной железы), колоректального рака (колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS)), рака яичника, рака поджелудочной железы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточной карциномы головы и шеи (HNSCC)), рака анального канала, рака желудка и пищевода, рака щитовидной железы, рака шейки матки, лимфопролиферативного заболевания (например, посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания) или гемобластома, Т-клеточной лимфомы, неходжкинской лимфомы или лейкоза (например, миелоидного лейкоза).

В одном варианте осуществления рак выбран из рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), рака поджелудочной железы (например, аденокарциномы протоков поджелудочной железы), рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы), меланомы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи), колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS)), рака яичника или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы).

В одном варианте осуществления рак выбран из рака мочевого пузыря, лейкоза, лимфомы, глиомы, глиобластомы, рака яичника, рака щитовидной железы, рака пищевода, рака предстательной железы, рака матки/шейки матки, рака яичка, рака пищевода, рака желудочно-кишечного тракта, рака толстой кишки, рака почки, рака желудка, рака половых клеток, рака кости, рака печени, рака кожи, новообразования центральной нервной системы, миеломы, саркомы и ассоциированного с вирусом рака.

Комбинация молекул антитела к CD73

Молекулы антитела к CD73 можно применять в комбинации с другими средствами терапии. Например, комбинированная терапия может включать композицию по настоящему изобретению, совместно составленную и/или вводимую вместе с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, например, одним или несколькими противораковыми средствами, цитотоксическими или цитостатическими средствами, гормональным лечением, вакцинами и/или другими средствами иммунотерапии. В других вариантах осуществления молекулы антитела вводят в комбинации с другими методами терапевтического лечения, включая хирургическое вмешательство, облучение, криохирургию и/или термотерапию. В таких средствах комбинированной терапии можно преимущественно применять более низкие дозы вводимых терапевтических средств, таким образом избегая возможных токсических эффектов или осложнений, связанных с различными средствами монотерапии.

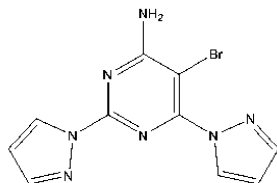
Термин "в комбинации с" не предназначен для обозначения того, что терапия или терапевтические средства должны быть введены в одно и то же время и/или составлены для доставки вместе, хотя данные способы доставки находятся в пределах объема, описанного в данном документе. Молекулы антитела к CD73 можно вводить одновременно с одним или несколькими дополнительными средствами терапии или терапевтическими средствами, до или после них. Молекула антитела к CD73 и другое средство или терапевтический протокол можно вводить в любом порядке. Как правило, каждое средство будет вводиться в дозе и/или по временному графику, которые определены для данного средства. Также следует понимать, что дополнительное терапевтическое средство, применяемое в данной комбинации, можно вводить совместно в одной композиции или вводить по отдельности в разных композициях. В целом, ожидается, что дополнительные терапевтические средства, применяемые в комбинации, будут применяться при уровнях, которые не превышают уровни, при которых они применяются по отдельности. В некоторых вариантах осуществления уровни, используемые в комбинации, будут ниже уровней при использовании по отдельности.

Иллюстративные антагонисты аденозиновых рецепторов A2A

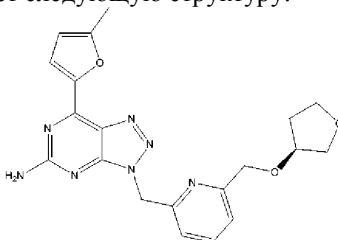
В определенных вариантах осуществления молекулы антитела к CD73, описанные в данном документе, вводят в комбинации с антагонистом аденозинового рецептора A2A (A2AR). Иллюстративные антагонисты A2AR включают, например, PBF509 (Palobiofarma/Novartis), CPI444/V81444 (Corvus/Genentech), AZD4635/HTL-1071 (AstraZeneca/Heptares), випаденант (Redox/Juno), GBV-2034 (Globavir) (Globavir), AB928 (Arcus Biosciences), теофиллин, истрадефиллин (Kyowa Hakko Kogyo), тозаденант/SYN-115 (Acorda), KW-6356 (Kyowa Hakko Kogyo), ST-4206 (Lediand Biosciences) и преладенант/SCH 420814 (Merck/Schering).

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой PBF509. PBF509 и

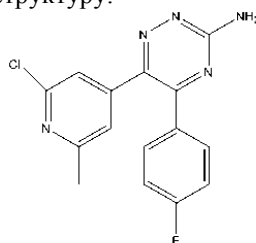
другие антагонисты A2AR раскрыты в US 8796284 и WO 2017/025918, включенных в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. PBF509 относится к 5-бром-2,6-ди-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амину со следующей структурой:



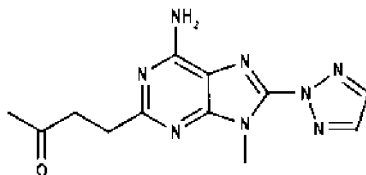
В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой CPI444/V81444. CPI-444 и другие антагонисты A2AR раскрыты в WO 2009/156737, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой (S)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой (R)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин или его рацемат. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой 7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиридин-2-ил)метил)-3H[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR имеет следующую структуру:



В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой AZD4635/HTL-1071. Антагонисты A2AR раскрыты в WO 2011/095625, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой 6-(2-хлор-6-метилпиридин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амин. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR имеет следующую структуру:



В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой ST-4206 (Leadiant Biosciences). В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой антагонист A2AR, описанный в патенте США № 9331997, полностью включенном в настоящий документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR имеет следующую структуру:



В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой антагонист A2AR, описанный в US8114845, US9029393, US20170015758 или US20160129108, полностью включенных в настоящий документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой истрадефиллин (регистрационный номер CAS: 155270-99-8). Истрадефиллин также известен как KW-6002 или 8-[(E)-2-(3,4-диметоксифенил)винил]-1,3-диэтил-7-метил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион. Истрадефиллин раскрыт, например, в LeWitt et al. (2008) *Annals of Neurology* 63 (3): 295-302).

В определенных вариантах осуществления антагонист A2AR представляет собой тозаданант (Biotie). Тозаданант также известен как SYN115 или 4-гидрокси-N-(4-метокси-7-морфолин-4-ил)-1,3-бензотиазол-

2-ил)-4-метилпиперидин-1-карбоксамид. Тозаденант блокирует действие эндогенного аденозина на рецепторы A2a, что приводит к усилению действия дофамина на рецептор D2 и ингибированию действия глутамата на рецептор mGluR5. В некоторых вариантах осуществления антагонист A2aR представляет собой преладенант (регистрационный номер CAS: 377727-87-2). Преладенант также известен как SCH 420814 или 2-(2-фуранил)-7-[2-[4-[4-(2-метоксиэтокси)фенил]-1-пиперазинил]этил]7H-пиразоло[4,3-е][1,2,4]триазоло[1,5-с]пиримидин-5-амин.

Преладенант был разработан как лекарственное средство, действующее как мощный и избирательный антагонист аденозинового рецептора A2A.

В определенных вариантах осуществления антагонист A2aR представляет собой випаденан. Випаденан также известен как ВІВ014, V2006 или 3-[(4-амино-3-метилфенил)метил]-7-(фуран-2-ил)триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин.

Другие иллюстративные антагонисты A2aR включают, например, ATL-444, MSX-3, SCH-58261, SCH-412,348, SCH-442,416, VER-6623, VER-6947, VER-7835, CGS-15943 или ZM-241,385.

В некоторых вариантах осуществления антагонист A2aR представляет собой антагонист пути с участием A2aR (например, ингибитор CD-73, например, антитело к CD73), представляет собой MEDI9447. MEDI9447 представляет собой моноклональное антитело, специфичное к CD73. Нацеливание на внеклеточное продуцирование аденозина посредством CD73 может снижать иммуносупрессивное действие аденозина. Сообщалось, что MEDI9447 обладает рядом параметров активности, например, ингибированием активности эктонуклеотидазы CD73, ослаблением AMP-опосредованной супрессии лимфоцитов и подавлением роста сингенной опухоли. MEDI9447 может управлять изменениями как в миелоидных, так и лимфоидных инфильтрирующих популяциях лейкоцитов в микроокружении опухоли. Эти изменения включают, например, увеличение показателей эффекторных клеток CD8 и активированных макрофагов и уменьшение пропорций клеток-супрессоров миелоидного происхождения (MDSC) и регуляторных Т-лимфоцитов.

Иллюстративные ингибиторы PD-1

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором PD-1. Ингибитор PD-1 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 выбран из PDR001 (Novartis), ниволумаба (Bristol-Myers Squibb), пембролизумаба (Merck & Co), пидилизумаба (CureTech), MEDI0680 (Medimmune), REGN2810 (Regeneron), TSR-042 (Tesar), PF-06801591 (Pfizer), BGB-A317 (Beigene), BGB-108 (Beigene), INCSHR1210 (Incyte) или AMP-224 (Amplimmune).

Иллюстративные молекулы антитела к PD-1

В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой молекулу антитела к PD-1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой молекулу антитела к PD-1, описанную в US 2015/0210769, опубликованном 30 июля 2015 г. под названием "Antibody Molecules to PD-1 and Uses Thereof, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть определяющих комплементарность областей (CDR) (или в совокупности все CDR) из варибельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 5 (например, из последовательностей варибельной области тяжелой и легкой цепей ВАР049-клона-Е или ВАР049-клона-В, раскрытых в табл. 5), или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 5. В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Kabat (например, как изложено в табл. 5). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Chothia (например, как изложено в табл. 5). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии с комбинированной схемой нумерации CDR как по Kabat, так и по Chothia (например, как изложено в табл. 5). В одном варианте осуществления CDR1 VH согласно комбинированной схеме нумерации CDR по Kabat и Chothia содержит аминокислотную последовательность GYTFTTYWMH (SEQ ID NO: 541). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в табл. 5, или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 5.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит варибельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 501, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 502 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 503; и варибельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 510, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 511 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 512, каждая из которых раскрыта в табл. 5.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, содержащую VHCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 524, VHCDR2, кодируемую нуклеотидной

Таблица 5

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к PD-1

HC ВАР049-клон-В		
SEQ ID NO: 501 (Kabat)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 502 (Kabat)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 503 (Kabat)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 504 (Chothia)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 505 (Chothia)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 503 (Chothia)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTY WMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDE KFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYY CTRWTTGTGAYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 507	ДНК, кодирующая VH	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTA GCTGTAAAGGTTCAAGGCTACACCTTCACTAC CTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACC GGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCT ACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGA GAAGTTTAAGAATAGAGTGACTATCACCGCC GATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAC TGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGT CTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACA GGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGA

		CCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 508	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTTY WMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDE KFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CTRWTTGTGAYWGQTTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLG
SEQ ID NO: 509	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTA GCTGTAAAGGTTCAAGGCTACACCTTCACTAC CTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACC GGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCT ACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACTTCGACGA GAAGTTTAAGAATAGAGTGAATATCACCGCC GATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAC TGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGT CTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACA GGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGA CCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCGTC CGTGTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGC ACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCC TGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCCGTGAC CGTGTCCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCC GGAGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAGA GCTCCGGGCTGTA CTGCTGTGCTCGGTGGT CACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAG ACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTT CCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATC GAAGTACGGCCACCGTGCCCGCCTTGTCCC GCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCT TTCTGTTCCCAACCGAAGCCCAAGGACACTTT GATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGC GTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCGG AGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGT CGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAG GGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCGCGTC GTGTCCGTGCTGACGGTGTGCTGCATCAGGACT

		GGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGA AAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCC CCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCG AGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTC TCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCC ATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAAC GGCCAGCCGAAAACAACACTACAAGACCACC CCTCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTT CCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGC AGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTTCAGCTGTT CTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTA CACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
LC ВАР049-клон-В		
SEQ ID NO: 510 (Kabat)	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511 (Kabat)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512 (Kabat)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513 (Chothia)	LCDR1	SQSLLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 514 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 515 (Chothia)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 516	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGN QKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCQNDYSY PYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 517	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCC TGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACT GAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGAT AGCGGTAATCAGAAGAAGTTCCTGACCTGGT ATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCTAAGCT GCTGATCTACTGGCCTCTACTAGAGAATCA GGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGC CTGCAGCCCGAGGATATCGCTACCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTT CGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 518	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGN QKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCQNDYSY PYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG

		TASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 519	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCC TGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACT GAGCTGTAAATCTAGTCAGTCACTGCTGGAT AGCGGTAATCAGAAGAACTTCCTGACCTGGT ATCAGCAGAAGCCCGGTAAGCCCTAAGCT GCTGATCTACTGGCCTCTACTAGAGAATCA GGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGC CTGCAGCCCGAGGATATCGCTACCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTT CGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGT ACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCC CCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCAC CGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTC TACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG GACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATA AGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGG CCTGTCCAGCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
HC ВАР049-клон- Е		
SEQ ID NO: 501 (Kabat)	HCDR1	TYWMH
SEQ ID NO: 502 (Kabat)	HCDR2	NIYPGTGGSNFDEKFKN
SEQ ID NO: 503 (Kabat)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 504 (Chothia)	HCDR1	GYTFTTY
SEQ ID NO: 505 (Chothia)	HCDR2	YPGTGG
SEQ ID NO: 503 (Chothia)	HCDR3	WTTGTGAY
SEQ ID NO: 506	VH	EVQLVQSGAEVKKPAGESLRISCKGSGYTFTTY WMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDE KFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYY CTRWTGTGAYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 507	ДНК, кодирующая	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTA

	VH	GCTGTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTAC CTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACC GGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCT ACCCCGGCACCGGCGGGCTCTAACTTCGACGA GAAGTTTAAGAATAGAGTGAATACACCGCC GATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAC TGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGT CTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACA GGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGA CCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 508	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTFTY WMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDE KFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CTRWTGTGAYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSL GTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVNS NKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGLG
SEQ ID NO: 509	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAGAATTA GCTGTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTAC CTACTGGATGCACTGGGTCCGCCAGGCTACC GGTCAAGGCCTCGAGTGGATGGGTAATATCT ACCCCGGCACCGGCGGGCTCTAACTTCGACGA GAAGTTTAAGAATAGAGTGAATACACCGCC GATAAGTCTACTAGCACCGCCTATATGGAAC TGTCTAGCCTGAGATCAGAGGACACCGCCGT CTACTACTGCACTAGGTGGACTACCGGCACA GGCGCCTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGA CCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTC CGTGTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGC ACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCC TGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGAC CGTGTCCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCC GGAGTGCACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGA GCTCCGGGCTGTAICTCGCTGTGCTCGGTGGT CACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAG ACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTT CCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATC

		GAAGTACGGCCACCGTGCCCGCCTTGTC GCGCCGGAGTTCTCGGCGGTCCCTCGGTCT TTCTGTTCCACCGAAGCCCAAGGACACTTT GATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGC GTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCGG AGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGT CGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAG GGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCGCGTC GTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACT GGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAG TGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGA AAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCC CCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCG AGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTC TCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCC ATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAAC GGCCAGCCGGAAAACAACACTACAAGACCACC CCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCCTTCTT CCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGC AGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTGAGCTGTT CTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACTA CACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
LC ВАР049-клон-Е		
SEQ ID NO: 510 (Kabat)	LCDR1	KSSQSLLDSGNQKNFLT
SEQ ID NO: 511 (Kabat)	LCDR2	WASTRES
SEQ ID NO: 512 (Kabat)	LCDR3	QNDYSYPYT
SEQ ID NO: 513 (Chothia)	LCDR1	SQSLLDSGNQKNF
SEQ ID NO: 514 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 515 (Chothia)	LCDR3	DYSYPY
SEQ ID NO: 520	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLLDSGN QKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFFTISSLEAEDAATYYCQNDYS YPYTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 521	ДНК, кодирующая VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCC TGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACT GAGCTGTAATCTAGTCAGTCACTGCTGGAT AGCGGTAATCAGAAGAAGTTCCTGACCTGGT ATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACT GCTGATCTACTGGCCTCTACTAGAGAATCA

		GGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGC CTGGAAGCCGAGGACGCCGCTACCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTT CGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 522	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGN QKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYS YPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 523	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCC TGAGCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACT GAGCTGTAATCTAGTCAGTCACTGCTGGAT AGCGGTAATCAGAAGAAGTTCCTGACCTGGT ATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACT GCTGATCTACTGGGCCTCTACTAGAGAATCA GGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCTTCACTATCTCTAGC CTGGAAGCCGAGGACGCCGCTACCTACTACT GTCAGAACGACTATAGCTACCCCTACACCTT CGGTCAAGGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGT ACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCC CCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCAC CGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTC TACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG GACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATA AGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGG CCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGCGAGTGC
HC ВАР049-клон- В		
SEQ ID NO: 524 (Kabat)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 525 (Kabat)	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACT TCGACGAGAAGTTTAAGAAT
SEQ ID NO: 526 (Kabat)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527 (Chothia)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC

(Chothia)		
SEQ ID NO: 526 (Chothia)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
LC ВАР049-клон-В		
SEQ ID NO: 529 (Kabat)	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTA ATCAGAAGAACTTCCTGACC
SEQ ID NO: 530 (Kabat)	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 531 (Kabat)	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 532 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGA AGAACTTC
SEQ ID NO: 533 (Chothia)	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 534 (Chothia)	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC
HC ВАР049-клон-Е		
SEQ ID NO: 524 (Kabat)	HCDR1	ACCTACTGGATGCAC
SEQ ID NO: 525 (Kabat)	HCDR2	AATATCTACCCCGGCACCGGCGGCTCTAACT TCGACGAGAAGTTAAGAAT
SEQ ID NO: 526 (Kabat)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
SEQ ID NO: 527 (Chothia)	HCDR1	GGCTACACCTTCACTACCTAC
SEQ ID NO: 528 (Chothia)	HCDR2	TACCCCGGCACCGGCGGC
SEQ ID NO: 526 (Chothia)	HCDR3	TGGACTACCGGCACAGGCGCCTAC
LC ВАР049-клон-Е		
SEQ ID NO: 529 (Kabat)	LCDR1	AAATCTAGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTA ATCAGAAGAACTTCCTGACC
SEQ ID NO: 530 (Kabat)	LCDR2	TGGGCCTCTACTAGAGAATCA
SEQ ID NO: 531 (Kabat)	LCDR3	CAGAACGACTATAGCTACCCCTACACC
SEQ ID NO: 532 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGTCACTGCTGGATAGCGGTAATCAGA AGAACTTC
SEQ ID NO: 533 (Chothia)	LCDR2	TGGGCCTCT
SEQ ID NO: 534 (Chothia)	LCDR3	GACTATAGCTACCCCTAC

Другие иллюстративные ингибиторы PD-1

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой ниволумаб (Bristol-Myers Squibb), также известный как MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 или OPDIVO®. Ниволумаб (клон 5C4) и другие антитела к PD-1 раскрыты в US 8008449 и WO 2006/121168, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи ниволумаба, например, раскрытые в табл. 6.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой пембролизумаб (Merck & Co), также известный как ламбролизумаб, MK-3475, MK03475, SCH-900475 или KEYTRUDA®. Пембролизумаб и другие антитела к PD-1 раскрыты в Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44, US 8354509 и WO 2009/114335, включенных посредством ссылки во всей своей

полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи пембролизумаба, например, раскрытые в табл. 6.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой пидилизумаб (CureTech), также известный как CT-011. Пидилизумаб и другие антитела к PD-1 раскрыты в Rosenblatt, J. et al. (2011) *J Immunotherapy* 34(5): 409-18, US 7695715, US 7332582 и US 8686119, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи пидилизумаба, например, раскрытые в табл. 6.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой MEDI0680 (Medimmune), также известное как AMP-514. MEDI0680 и другие антитела к PD-1 раскрыты в US 9205148 и WO 2012/145493, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи MEDI0680.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой REGN2810 (Regeneron). В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи REGN2810.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой PF-06801591 (Pfizer). В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи PF-06801591.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой BGB-A317 или BGB-108 (Beigene). В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BGB-A317 или BGB-108.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой INCSHR1210 (Incyte), также известное как INCSHR01210 или SHR-1210. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи INCSFIR1210.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой TSR-042 (Tesar), также известное как ANB011. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TSR-042.

Дополнительные известные антитела к PD-1 включают антитела, описанные, например, в WO 2015/112800, WO 2016/092419, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2014/194302, WO 2014/209804, WO 2015/200119, US 8735553, US 7488802, US 8927697, US 8993731 и US 9102727, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание с тем же эпитопом на PD-1, что и одно из антител к PD-1, описанных в данном документе, и/или связывает его.

В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой пептид, который ингибирует сигнальный путь с участием PD-1, например, как описано в US 8907053, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой иммуноадгезин (например, иммуноадгезин, содержащий внеклеточную или PD-1-связывающую часть PD-L1 или PD-L2, слитую с константным участком (например, Fc-участок последовательности иммуноглобулина)). В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой AMP-224 (B7-DCIg (Amplimmune), например, раскрытый в WO 2010/027827 и WO 2011/066342, включенных посредством ссылки во всей своей полноте).

Таблица 6

Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антитела к PD-1

Ниволумаб		
SEQ ID NO: 535	Тяжелая цепь	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVR QAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNK NTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGK TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLGLK
SEQ ID NO: 536	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK GQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPE DFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
Пембролизумаб		
SEQ ID NO: 537	Тяжелая цепь	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYYMYWV RQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFKNEKFKNRVTLTDDSS TTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
SEQ ID NO: 538	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWY QQKPGQAPRLLIYLAYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
Пидилизумаб		
SEQ ID NO: 539	Тяжелая цепь	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYTFTNYGMNWVR QAPGQLQWGWINTDSGESTYAEFEKGRFVFLDTSV NTAYLQITSLTAEDTGMVFCVVRVGYDALDYWGQGLTV

		TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 540	Легкая цепь	EIVLTQSPSSLSASVGRVITITCSARSSVSYMHWFQKPG KAPKLWIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGTSYCLTINSLQPE DFATYYCQQRSSFPLTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC

Иллюстративные ингибиторы PD-L1

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором PD-L1. Ингибитор PD-L1 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 выбран из FAZ053 (Novartis), атезолизумаба (Genentech/Roche), авелумаба (Merck Serono и Pfizer), дурвалумаба (MedImmune/AstraZeneca) или BMS-936559 (Bristol-Myers Squibb).

Иллюстративные молекулы антитела к PD-L1

В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой молекулу антитела к PD-L1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой молекулу антитела к PD-L1, раскрытую в US 2016/0108123, опубликованном 21 апреля 2016 г. под названием "Antibody Molecules to PD-L1 and Uses Thereof, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть определяющих комплементарность областей (CDR) (или в совокупности все CDR) из вариабельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 7 (например, из последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой цепей ВАР058-клона О или ВАР058-клона N, раскрытых в табл. 7), или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 7. В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Kabat (например, как изложено в табл. 7). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Chothia (например, как изложено в табл. 7). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии с комбинированной схемой нумерации CDR как по Kabat, так и по Chothia (например, как изложено в табл. 7). В одном варианте осуществления CDR1 VH согласно комбинированной схеме нумерации CDR по Kabat и Chothia содержит аминокислотную последовательность GYTFTSYWY (SEQ ID NO: 647). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в табл. 7, или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 7.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 601, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 602 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 603; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 609, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 610 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 611, каждая из которых раскрыта в табл. 7.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VH, содержащую VHCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 628, VHCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 629, и VHCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 630; и VL, содержащую VLCDR1, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 633, VLCDR2, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 634, и VLCDR3, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 635, каждая из которых раскрыта в табл. 7.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 606, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последователь-

тидной последовательностью под SEQ ID NO: 615, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 619. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 623, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 627.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в US 2016/0108123, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 7

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к PD-L1

HC ВАР058-клон О		
SEQ ID NO: 601 (Kabat)	HCDR1	SYWMY
SEQ ID NO: 602 (Kabat)	HCDR2	RIDPNSGSTKYNEKFKN
SEQ ID NO: 603	HCDR3	DYRKGLYAMDY

(Kabat)		
SEQ ID NO: 604 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 605 (Chothia)	HCDR2	DPNSGS
SEQ ID NO: 603 (Chothia)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 606	VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTS YWMYWVRQARGQRLEWIGRIDPNSGSTKYN EKFKNRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDYRKGLYAMDYWGQGT TTVTVSS
SEQ ID NO: 607	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGCGCTACCGTGAAGATT AGCTGTAAAGTCTCAGGCTACACCTTCACT AGCTACTGGATGTACTGGGTCCGACAGGCT AGAGGGCAAAGACTGGAGTGGATCGGTAG AATCGACCCTAATAGCGGCTCTACTAAGTA TAACGAGAAGTTTAAGAATAGGTTCACTAT TAGTAGGGATAACTCTAAGAACACCCTGTA CCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGA CACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTA TAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTG GGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTC A
SEQ ID NO: 608	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTS YWMYWVRQARGQRLEWIGRIDPNSGSTKYN EKFKNRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDYRKGLYAMDYWGQGT TTVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPRE

		<p>PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQ KSLSLSLG</p>
<p>SEQ ID NO: 615</p>	<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь</p>	<p>GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGGCGCTACCGTGAAGATT AGCTGTAAAGTCTCAGGCTACACCTTCACT AGCTACTGGATGTACTGGGTCCGACAGGCT AGAGGGCAAAGACTGGAGTGGATCGGTAG AATCGACCCTAATAGCGGCTCTACTAAGTA TAACGAGAAGTTAAGAATAGGTTCACTAT TAGTAGGGATAACTCTAAGAACACCCTGTA CCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGA CACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTA TAGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTG GGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTC AGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCC CCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGA ATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAA GGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTG CTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGT GCACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCC GGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACG GTGCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGACCT ACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCA ACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATCGA AGTACGGCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCG CGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTT TCTGTTCCCACCGAAGCCCAAGGACACTTT GATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATG CGTGGTTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCC GGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGG CGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCC GAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCG CGTCGTGTCGCTGACGGTGTGTCATCA</p>

		GGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGT GCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCT CAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGG GACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCC TGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGA ACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGG GCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAAT GGGAGTCCAACGGCCAGCCGAAAACAACCT ACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAG ACGGATCCTTCTCCTCTACTCGCGGCTGAC CGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAA ATGTGTTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGC CCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCT GTCCCTCTCCCTGGGA
LC ВАР058-клон О		
SEQ ID NO: 609 (Kabat)	LCDR1	KASQDVGTA
SEQ ID NO: 610 (Kabat)	LCDR2	WASTRHT
SEQ ID NO: 611(Kabat)	LCDR3	QQYNSYPLT
SEQ ID NO: 612 (Chothia)	LCDR1	SQDVGTA
SEQ ID NO: 613 (Chothia)	LCDR2	WAS
SEQ ID NO: 614 (Chothia)	LCDR3	YNSYPL
SEQ ID NO: 616	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDVGTA VAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSGTDFTFITISLEAEDAATYYCQQYNSYP LTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 617	ДНК, кодирующая VL	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCC TGAGCGCTAGTGTGGCGATAGAGTACTA TCACCTGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGCA

		<p>CCGCCGTGGCCTGGTATCTGCAGAAGCCTG GTCAATCACCTCAGCTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGACACACCGGCGTGCCCTCTAG GTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTT CACCTTCACTATCTCTTCACTGGAAGCCGAG GACGCCGCTACCTACTACTGTGAGCAGTAT AATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAAGGC ACTAAGGTCGAGATTAAG</p>
SEQ ID NO: 618	Легкая цепь	<p>AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTA VAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSGTDFFTISSLEAEDAATYYCQYNSYP LTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
SEQ ID NO: 619	ДНК, кодирующая легкую цепь	<p>GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCC TGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTA TCACCTGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGCA CCGCCGTGGCCTGGTATCTGCAGAAGCCTG GTCAATCACCTCAGCTGCTGATCTACTGGGC CTCTACTAGACACACCGGCGTGCCCTCTAG GTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTT CACCTTCACTATCTCTTCACTGGAAGCCGAG GACGCCGCTACCTACTACTGTGAGCAGTAT AATAGCTACCCCCTGACCTTCGGTCAAGGC ACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCC GCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCG ACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGC GTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCC GGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGAC AACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGA GAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTC CACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCT GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCC</p>

		TGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACA GGGGCGAGTGC
HC ВАР058-клон N		
SEQ ID NO: 601 (Kabat)	HCDR1	SYWMY
SEQ ID NO: 602 (Kabat)	HCDR2	RIDPNSGSTKYNEKFKN
SEQ ID NO: 603 (Kabat)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 604 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 605 (Chothia)	HCDR2	DPNSGS
SEQ ID NO: 603 (Chothia)	HCDR3	DYRKGLYAMDY
SEQ ID NO: 620	VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTS YWMYWVRQATGQGLEWMGRIDPNSGSTKY NEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 621	ДНК, кодирующая VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGGCGCTACCGTGAAGATT AGCTGTAAAGTCTCAGGCTACACCTTCACT AGCTACTGGATGTAAGGCTCCGACAGGCT ACCGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGTAGA ATCGACCCTAATAGCGGCTCTACTAAGTAT AACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGAATATC ACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTAT ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGAC ACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTAT AGAAAGGGCCTGTACGCTATGGACTACTGG GGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTCA
SEQ ID NO: 622	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTS YWMYWVRQATGQGLEWMGRIDPNSGSTKY

		<p>NEKFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDYRKGLYAMDYWGQTTVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLG</p>
<p>SEQ ID NO: 623</p>	<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь</p>	<p>GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGCGCTACCGTGAAGATT AGCTGTAAGTCTCAGGCTACACCTTCACT AGCTACTGGATGTACTGGGTCCGACAGGCT ACCGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGTAGA ATCGACCCTAATAGCGGCTCTACTAAGTAT AACGAGAAGTTTAAGAATAGAGTGAATATC ACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGCCTAT ATGGAAGTGTCTAGCCTGAGATCAGAGGAC ACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGACTAT AGAAAGGGCTGTACGCTATGGACTACTGG GGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTTCA GCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCC CTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAA TCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAG GATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTT GGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGC ACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCG GGCTGTAAGTCTGCTGTCGGTGGTACCGGT GCCTTCATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTA CACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAA CACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATCGAA</p>

		GTACGGCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCGC GCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTT CTGTTCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTG ATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGC GTGGTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCG GAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGC GTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCG AGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCGC GTCGTGCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAG GACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCA ATCGAAAAGACCATCTCGAAAAGCCAAGGGA CAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTG CCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAA CCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGC TTTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGG GAGTCCAACGGCCAGCCGGAAAACA ACTAC AAGACCACCCCTCCGGTGCTGGACTCAGAC GGATCCTTCTTCCTCTACTCGCGGCTGACCG TGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGAAAT GTGTT CAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCC TGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGT CCCTCTCCCTGGGA
LC BAP058-клон N		
SEQ ID NO: 609 (Kabat)	LCDR1	KASQDVGTA VA
SEQ ID NO: 610 (Kabat)	LCDR2	WASTRHT
SEQ ID NO: 611(Kabat)	LCDR3	QQYNSYPLT
SEQ ID NO: 612 (Chothia)	LCDR1	SQDVGTA
SEQ ID NO: 613 (Chothia)	LCDR2	WAS

SEQ ID NO: 614 (Chothia)	LCDR3	YNSYPL
SEQ ID NO: 624	VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQDVGTA VAWYQQKPGQAPRLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYP LTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 625	ДНК, кодирующая VL	GACGTCGTGATGACTCAGTCACCCCTGAGC CTGCCCCTGACCCTGGGGCAGCCCGCCTCT ATTAGCTGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGC ACCGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCA GGGCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGG GCCTCTACTAGACACACCGGCGTGCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGAG TTCACCCCTGACTATCTCTTCACTGCAGCCCG ACGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGTA TAATAGCTACCCCTGACCTTCGGTCAAGG CACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 626	Легкая цепь	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQDVGTA VAWYQQKPGQAPRLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYP LTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 627	ДНК, кодирующая легкую цепь	GACGTCGTGATGACTCAGTCACCCCTGAGC CTGCCCCTGACCCTGGGGCAGCCCGCCTCT ATTAGCTGTAAAGCCTCTCAGGACGTGGGC ACCGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCA GGGCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACTGG GCCTCTACTAGACACACCGGCGTGCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGAG TTCACCCCTGACTATCTCTTCACTGCAGCCCG ACGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGTA TAATAGCTACCCCTGACCTTCGGTCAAGG CACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGC

		CGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGC GACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAG CGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCC CGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGA CAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGA GAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTC CACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCT GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCC TGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACA GGGGCGAGTGC
HC ВАР058-клон O		
SEQ ID NO: 628 (Kabat)	HCDR1	agctactggatgtac
SEQ ID NO: 629 (Kabat)	HCDR2	agaatcgaccctaataagcggcttactaagtataacgagaagttaagaa t
SEQ ID NO: 630 (Kabat)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
SEQ ID NO: 631 (Chothia)	HCDR1	ggctacaccttactagctac
SEQ ID NO: 632 (Chothia)	HCDR2	gaccctaataagcggctct
SEQ ID NO: 630 (Chothia)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
LC ВАР058-клон O		
SEQ ID NO: 633 (Kabat)	LCDR1	aaagcctctcaggacgtgggcaccgccgtggcc
SEQ ID NO: 634 (Kabat)	LCDR2	tgggccttactagacacacc
SEQ ID NO: 635 (Kabat)	LCDR3	cagcagtataatagctacccctgacc
SEQ ID NO: 636 (Chothia)	LCDR1	tctcaggacgtgggcaccgcc

SEQ ID NO: 637 (Chothia)	LCDR2	tgggcctct
SEQ ID NO: 638 (Chothia)	LCDR3	tataatagctaccccctg
HC BAP058-клон N		
SEQ ID NO: 628 (Kabat)	HCDR1	agctactggatgtac
SEQ ID NO: 629 (Kabat)	HCDR2	agaatcgaccctaataagcggctctactaagtataacgagaagttaagaat
SEQ ID NO: 630 (Kabat)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
SEQ ID NO: 631 (Chothia)	HCDR1	ggctacacctcactagctac
SEQ ID NO: 632 (Chothia)	HCDR2	gaccctaataagcggctct
SEQ ID NO: 630 (Chothia)	HCDR3	gactatagaaagggcctgtacgctatggactac
LC BAP058-клон N		
SEQ ID NO: 633 (Kabat)	LCDR1	aaagcctctcaggacgtgggcaccgccgtggcc
SEQ ID NO: 634 (Kabat)	LCDR2	tgggcctctactagacacacc
SEQ ID NO: 635 (Kabat)	LCDR3	cagcagtataatagctaccccctgacc
SEQ ID NO: 636 (Chothia)	LCDR1	tctcaggacgtgggcaccgcc
SEQ ID NO: 637 (Chothia)	LCDR2	tgggcctct
SEQ ID NO: 638 (Chothia)	LCDR3	tataatagctaccccctg

Другие иллюстративные ингибиторы PD-L1

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-1 представляет собой атезолизумаб (Genentech/Roche), также известный как MPDL3280A, RG7446, RO5541267, YW243.55.S70 или TECEN-TRIQ™. Атезолизумаб и другие антитела к PD-L1 раскрыты в US 8217149, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи атезолизумаба, например, раскрытые в табл. 8.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 представляет собой авелумаб (Merck Serono и Pfizer), также известный как MSB0010718C. Авелумаб и другие антитела к PD-L1 раскрыты в WO 2013/079174, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи авелумаба, например, раскрытые в табл. 8.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 представляет собой дурвалумаб

(MedImmune/AstraZeneca), также известный как MEDI4736. Дурвалумаб и другие антитела к PD-L1 раскрыты в US 8779108, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи дурвалумаба, например, раскрытые в табл. 8.

В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 представляет собой BMS-936559 (Bristol-Myers Squibb), также известное как MDX-1105 или 12A4. BMS-936559 и другие антитела к PD-L1 раскрыты в US 7943743 и WO 2015/081158, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к PD-L1 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BMS-936559, например, раскрытые в табл. 8.

Дополнительные известные антитела к PD-L1 включают антитела, описанные, например, в WO 2015/181342, WO 2014/100079, WO 2016/000619, WO 2014/022758, WO 2014/055897, WO 2015/061668, WO 2013/079174, WO 2012/145493, WO 2015/112805, WO 2015/109124, WO 2015/195163, US 8168179, US 8552154, US 8460927 и US 9175082, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание с тем же эпитопом на PD-L1, что и одно из антител к PD-L1, описанных в данном документе, и/или связывает его.

Таблица 8

Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антитела к PD-L1

Атезолизум аб		
SEQ ID NO: 639	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQ APGKGLEWVAVWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 640	Легкая цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQK PGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
Авелумаб		
SEQ ID NO: 641	Тяжелая цепь	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQ APGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 642	Легкая цепь	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQ HPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGL QAEDEADYYCSSYTSSTRVFGTGTKVTVLQPKANPTV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV KAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS
Дурвалумаб		
SEQ ID NO: 643	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVR QAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGT

		LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYV LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 644	Легкая цепь	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQRVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
BMS-936559		
SEQ ID NO: 645	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKTSGDTFSTYAIWVVRQ APGQGLEWMGGIPIFGKAHYAQKFQGRVTITADESTSTA YMESSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVWGQGT TVVSS
SEQ ID NO: 646	VL	EIVLTQSPATLTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK GQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPED FAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIK

Иллюстративные ингибиторы LAG-3

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором LAG-3, известным из уровня техники. Ингибитор LAG-3 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор LAG-3 выбран из LAG525 (Novartis), BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), TSR-033 (Tesar), MK-4280 (Merck & Co) или REGN3767 (Regeneron).

Иллюстративные молекулы антитела к LAG-3

В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой молекулу антитела к LAG-3. В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой молекулу антитела к LAG-3, раскрытого в US 2015/0259420, опубликованном 17 сентября 2015 г. под названием "Antibody Molecules to LAG-3 and Uses Thereof", включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть определяющих комплементарность областей (CDR) (или в совокупности все CDR) из варибельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 9 (например, из последовательностей варибельной области тяжелой и легкой цепей ВАР050-клона I или ВАР050-клона J, раскрытых в табл. 9), или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 9. В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Kabat (например, как изложено в табл. 9). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Chothia (например, как изложено в табл. 5). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии с комбинированной схемой нумерации CDR как по Kabat, так и по Chothia (например, как изложено в табл. 9). В одном варианте осуществления CDR1 VH согласно комбинированной схеме нумерации CDR по Kabat и Chothia содержит аминокислотную последовательность GFTLTNYGMN (SEQ ID NO: 766). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в табл. 9, или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 9.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит варибельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 701, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 702 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 703; и варибельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 710, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 711 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 712, каждая из которых раскрыта в табл. 9.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит VH, содержащую

ности с SEQ ID NO: 733. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 709, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 721. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 727, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 733.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 716 или 717 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 716 или 717. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 722 или 723 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 722 или 723. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 728 или 729 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 728 или 729. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 734 или 735 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 734 или 735. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 716 или 717, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 722 или 723. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 728 или 729, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 734 или 735.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в US 2015/0259420, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 9

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к LAG-3

HC VAR050-клон I		
SEQ ID NO: 701 (Kabat)	HCDR1	NYGMN
SEQ ID NO: 702 (Kabat)	HCDR2	WINTDTGEPTYADDFKG
SEQ ID NO: 703 (Kabat)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 704 (Chothia)	HCDR1	GFTLTNY
SEQ ID NO: 705 (Chothia)	HCDR2	NTDTGE
SEQ ID NO: 703 (Chothia)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 706	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTLTNYGM NWVRQARGQRLEWIGWINTDTGEPTYADDFKGRF VFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 707	ДНК, кодирую щая VH	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGAGCCGAAGTG AAGAAGCCTGGAGCCTCGGTGAAGGTGTCGTGC AAGGCATCCGGATTCACCCTACCAATTACGGGA TGAAGTGGGTCAGACAGGCCCGGGGTCAACGGC TGGAGTGGATCGGATGGATTAACACCGACACCG GGGAGCCTACCTACGCGGACGATTTCAAGGGAC GGTTCGTGTTCTCCCTCGACACCTCCGTGTCCAC CGCCTACCTCCAAATCTCCTCACTGAAAGCGGAG GACACCGCCGTGACTATTGCGCGAGGAACCCG CCCTACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCC ATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGTGACT GTGTCCAGC
SEQ ID NO: 708	ДНК, кодирую	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGC

	шая VH	AAGGCCTCTGGCTTCACCCTGACCAACTACGGCA TGAAGTGGGTGCGACAGGCCAGGGGCCAGCGGC TGGAATGGATCGGCTGGATCAACACCGACACCG GCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCA GATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCAC CGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAG GATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAACCCCC CTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCAT GGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGT GTCTCT
SEQ ID NO: 709	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTLTNYGM NWVRQARGQRLEWIGWINTDTGEPTYADDFKGRF VFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGLG
SEQ ID NO: 716	ДНК, кодирую щая тяжелую цепь	CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGGAGCCGAAGTG AAGAAGCCTGGAGCCTCGGTGAAGGTGTCGTGC AAGGCATCCGGATCACCTCACCAATTACGGGA TGAAGTGGGTGAGACAGGCCCGGGTCAACGGC TGGAGTGGATCGGATGGATTAACACCGACACCG GGGAGCCTACCTACGCCGACGATTTCAAGGGAC GGTTCGTGTTCTCCCTCGACACCTCCGTGTCCAC CGCCTACCTCCAAATCTCCTCACTGAAAGCGGAG GACACCGCCGTGTACTATTGCGCGAGGAACCCG CCCTACTACTACGGAACCAACAACGCCGAAGCC ATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGTGACT GTGTCCAGCGCTCCACTAAGGGCCCGTCCGTGT TCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGA ATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGAT TACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACA GCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCC CGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTG TCGTGCGGTGGTACGGTGCCTTCATCTAGCCTGG GTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACA AGCCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCG AATCGAAGTACGGCCACCGTGCCCGCCTTGTC CGCGCCGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTT

		<p>CTGTTCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGA TTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTTCGT GGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTT CAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAA CGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTG CTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGC TCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGA CAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCAC CGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCT CATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATC GGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCA GCCGAAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGT GCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCTCTACTCG CGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAG GAAATGTGTTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAG CCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTC CCTCTCCCTGGGA</p>
SEQ ID NO: 717	ДНК, кодирую щая тяжелую цепь	<p>CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGC AAGGCCTCTGGCTTACCCTGACCAACTACGGCA TGAAGTGGGTGCGACAGGCCAGGGGCCAGCGGC TGGAATGGATCGGCTGGATCAACACCGACACCG GCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCA GATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCAC CGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAG GATACCGCCGTGTAATACTGCGCCCGGAACCCCT CTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCAT GGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGT GTCTCTGCTTCTACCAAGGGGCCAGCGTGTTC CCCCTGGCCCCCTGCTCCAGAAGCACCAGCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACA GCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC CGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCT GAGCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAGCCT GGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCA CAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGT GGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCCCCTG CCCAGCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTG TTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGA TGATCAGCAGAACCCCGAGGTGACCTGTGTGGT GGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCGAGGTCCA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA</p>

		CAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTT TAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACC GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAG TACAAGTGTAAGGTCTCCAACAAGGGCCTGCCA AGCAGCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCTAGAGAGCCCCAGGTCTACACCCTG CCACCCAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACC CAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACG GCCAGCCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTGA CAGCAGGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCA GGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACCCCAGAAGAGC CTGAGCCTGTCCCTGGGC
LC ВАР050-клон I		
SEQ ID NO: 710 (Kabat)	LCDR1	SSSQDISNYLN
SEQ ID NO: 711 (Kabat)	LCDR2	YTSTLHL
SEQ ID NO: 712 (Kabat)	LCDR3	QQYYNLPWT
SEQ ID NO: 713 (Chothia)	LCDR1	SQDISNY
SEQ ID NO: 714 (Chothia)	LCDR2	YTS
SEQ ID NO: 715 (Chothia)	LCDR3	YYNLPW
SEQ ID NO: 718	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCSSSQDISNYLNWY LQKPGQSPQLLIYYTSTLHLGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDFFATYYCQQYYNLPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 719	ДНК, кодирую щая VL	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAATCACCTCAGC TGCTGATCTACTACACTAGCACCTGCACCTGGG CGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGC ACCGAGTTCACCTGACTATCTCTAGCCTGCAGC CCGACGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGTA CTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 720	ДНК, кодирую щая VL	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCTCCAGCCAGGACATCTCCAACCTGAACT TGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCTCAGC

		TGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGG CGTGCCCTCCAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGC ACCGAGTTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGC CCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTA CTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 721	Легкая цепь	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSSSQDISNYLNWY LQKPGQSPQLLIYYTSTLHLGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDDFATYYCQYYNLPWTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 722	ДНК, кодирую щая легкую цепь	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCTGCAGAAGCCCGGTCAATCACCTCAGC TGCTGATCTACTACACTAGCACCTGCACCTGGG CGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGC ACCGAGTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGC CCGACGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGTA CTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACT AAGGTTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGC TGAACAACCTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGC AGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCA ACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGG TGACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTC CAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGA GTGC
SEQ ID NO: 723	ДНК, кодирую щая легкую цепь	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCTCCAGCCAGGACATCTCCAACCTGAAC TGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCTCAGC TGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGGG CGTGCCCTCCAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGC ACCGAGTTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGC CCGACGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTA CTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCAAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCT GAACAACCTTCTACCCAGGGAGGCCAAGGTGCA

		GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTG TACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
HC BAP050-клон J		
SEQ ID NO: 701 (Kabat)	HCDR1	NYGMN
SEQ ID NO: 702 (Kabat)	HCDR2	WINTDTGEPTYADDFKG
SEQ ID NO: 703 (Kabat)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 704 (Chothia)	HCDR1	GFTLTNY
SEQ ID NO: 705 (Chothia)	HCDR2	NTDTGE
SEQ ID NO: 703 (Chothia)	HCDR3	NPPYYYGTNNAEAMDY
SEQ ID NO: 724	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFTLTNYGM NWVRQAPGQGLEWMGWINTDTGEPTYADDFKGR FVFSLDTSVSTAYLQISLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 725	ДНК, кодирую щая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTCAGCTGT AAAGCTAGTGGCTTCACCCTGACTAACTACGGGA TGAAGTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCC TCGAGTGGATGGGCTGGATTAACACCGACACCG GCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTAAAGGGCA GATTCGTGTTTAGCCTGGACACTAGTGTGTCTAC CGCCTACCTGCAGATCTCTAGCCTGAAGGCCGAG GACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAAACCCCC CCTACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTAT GGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGT GTCTAGC
SEQ ID NO: 726	ДНК, кодирую щая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGC AAGGCCTCTGGCTTCACCCTGACCAACTACGGCA TGAAGTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAGGGCC TGGAATGGATGGGCTGGATCAACACCGACACCG GCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCA GATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCAC CGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAG GATACCGCCGTGACTACTGCGCCCCGGAACCCCC

		CTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCAT GGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGT GTCCTCT
SEQ ID NO: 727	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFTLTNYGM NWVRQAPGQGLEWMGWINTDTGEPTYADDFKGR FVFLDTSVSTAYLQISLKAEDTAVYYCARNPPYY YGTNNAEAMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGLG
SEQ ID NO: 728	ДНК, кодирую щая тяжелую цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTG AAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTCAGCTGT AAAGCTAGTGGCTTACCCTGACTAACTACGGGA TGAAGTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCC TCGAGTGGATGGGCTGGATTAACACCGACACCG GCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTTAAGGGCA GATTCGTGTTTAGCCTGGACACTAGTGTGTCTAC CGCCTACCTGCAGATCTCTAGCCTGAAGCCGAG GACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAAACCCCC CCTACTACTACGGCACTAACAACGCCGAGGCTAT GGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGT GTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTT CCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAAT CCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTA CTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGC GGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCG CTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTAAGCGTGTG GTCGGTGGTACGGTGCCTTCATCTAGCCTGGGT ACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAG CCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAA TCGAAGTACGGCCACCGTGCCCGCCTTGTCCCG CGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCT GTTCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATT TCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTTCGTTG ACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCA ATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCACAACG CCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACT CCACTTACCGCGTCGTGTCCTGCTGACGGTGCT GCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAA

		<p>GTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCA ATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAG CCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCTGCCACCGA GCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCAT TGACTIONCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGA TATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCC GGAAAACA ACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTCT GGACTCAGACGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGG CTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGGA AATGTGTTCAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCC TGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCT CTCCCTGGGA</p>
<p>SEQ ID NO: 729</p>	<p>ДНК, кодирую щая тяжелую цепь</p>	<p>CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTG AAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGC AAGGCCTCTGGCTTACCCCTGACCAACTACGGCA TGA ACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAGGGCC TGG AATGGATGGGCTGGATCAACACCGACACCG GCGAGCCTACCTACGCCGACGACTTCAAGGGCA GATTCGTGTTCTCCCTGGACACCTCCGTGTCCAC CGCCTACCTGCAGATCTCCAGCCTGAAGGCCGAG GATACCGCCGTGTACTIONTACTGCGCCCGGAACCC CTTACTACTACGGCACCAACAACGCCGAGGCCAT GGACTATTGGGGCCAGGGCACCAACCGTGACCGT GTCCTCTGCTTCTACCAAGGGGCCAGCGTGTTC CCCCTGGCCCCCTGCTCCAGAAGCACCAGCGAG AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACA GCGGAGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCC CGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCT GAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCT GGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCA CAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGGGT GGAGAGCAAGTACGGCCCACCCTGCCCCCCTG CCCAGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTG TTCTGTTCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGA TGATCAGCAGAACCCCGAGGTGACCTGTGTGGT GGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCGAGGTCCA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA CAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTT TAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACC GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAG TACAAGTGTAAGGTCTCCAACAAGGGCCTGCCA AGCAGCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCTAGAGAGCCCCAGGTCTACACCCTG CCACCAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAG</p>

		GTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACC CAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACG GCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTGA CAGCAGGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCA GGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGC CTGAGCCTGTCCCTGGGC
LC ВАР050-клон J		
SEQ ID NO: 710 (Kabat)	LCDR1	SSSQDISNYLN
SEQ ID NO: 711 (Kabat)	LCDR2	YTSTLHL
SEQ ID NO: 712 (Kabat)	LCDR3	QQYYNLPWT
SEQ ID NO: 713 (Chothia)	LCDR1	SQDISNY
SEQ ID NO: 714 (Chothia)	LCDR2	YTS
SEQ ID NO: 715 (Chothia)	LCDR3	YYNLPW
SEQ ID NO: 730	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYYTSTLHLGIPPRFSGSGYGTDFL LTINNIESEDAAYYFCQQYYNLPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 731	ДНК, кодирую щая VL	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAGCCCTAAG CTGCTGATCTACTACACTAGCACCTGCACCTGG GAATCCCCCTAGGTTTAGCGGTAGCGGCTACGG CACCGACTTCACCTGACTATTAACAATATCGAG TCAGAGGACGCCGCTACTACTTCTGTCAGCAGT ACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCAC TAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 732	ДНК, кодирую щая VL	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCTCCAGCCAGGACATCTCCAACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAG CTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGG GCATCCCCCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTACGG CACCGACTTCACCTGACCATCAACAACATCGAG TCCGAGGACGCCGCTACTACTTCTGCCAGCAGT ACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 733	Легкая	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSSSQDISNYLNWY

	цепь	QQKPGKAPKLLIYYTSTLHLGIPPRFSGSGYGTDFT LTINNIESEDAAYYFCQQYYNLPWTFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS TLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
SEQ ID NO: 734	ДНК, кодирую щая легкую цепь	GATATTCAGATGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGCGATAGAGTACTATCACCTG TAGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGTAAAGCCCCTAAG CTGCTGATCTACTACACTAGCACCTGCACCTGG GAATCCCCCTAGGTTTAGCGGTAGCGGCTACGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAACAATATCGAG TCAGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGTGTCAGCAGT ACTATAACCTGCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCAC TAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGC TGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGC AGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCA ACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCA AGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAAG TGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTC CAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGA GTGC
SEQ ID NO: 735	ДНК, кодирую щая легкую цепь	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TTCTCCAGCCAGGACATCTCCAACCTGAAC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAG CTGCTGATCTACTACACCTCCACCCTGCACCTGG GCATCCCCCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTACGG CACCGACTTCACCCTGACCATCAACAACATCGAG TCCGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGCCAGCAGT ACTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCC CAGCGTGTTCATCTTCCCCCAAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTG CTGAACAACCTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTG CAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC AACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGC AAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTG ACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAG GTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGT CCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG

		AGTGC
HC BAP050-клон I		
SEQ ID NO: 736 (Kabat)	HCDR1	AATTACGGGATGAAC
SEQ ID NO: 737 (Kabat)	HCDR1	AACTACGGCATGAAC
SEQ ID NO: 738 (Kabat)	HCDR2	TGGATTAACACCGACACCGGGGAGCCTACCTAC GCGGACGATTTCAAGGGA
SEQ ID NO: 739 (Kabat)	HCDR2	TGGATCAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTAC GCCGACGACTTCAAGGGC
SEQ ID NO: 740 (Kabat)	HCDR3	AACCCGCCCTACTACTACGGAACCAACAACGCC GAAGCCATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Kabat)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
SEQ ID NO: 742 (Chothia)	HCDR1	GGATTCACCCTCACCAATTAC
SEQ ID NO: 743 (Chothia)	HCDR1	GGCTTCACCCTGACCAACTAC
SEQ ID NO: 744 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGGGAG
SEQ ID NO: 745 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGCGAG
SEQ ID NO: 740 (Chothia)	HCDR3	AACCCGCCCTACTACTACGGAACCAACAACGCC GAAGCCATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Chothia)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
LC BAP050-клон I		
SEQ ID NO: 746 (Kabat)	LCDR1	AGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 747 (Kabat)	LCDR1	TCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACCTACCTGAAC
SEQ ID NO: 748 (Kabat)	LCDR2	TACTACTAGCACCTGCACCTG
SEQ ID NO: 749 (Kabat)	LCDR2	TACACCTCCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 750 (Kabat)	LCDR3	CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 751 (Kabat)	LCDR3	CAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 752 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGGATATCTCTAACTAC
SEQ ID NO: 753 (Chothia)	LCDR1	AGCCAGGACATCTCCAACCTAC
SEQ ID NO: 754	LCDR2	TACTACTAGC

(Chothia)		
SEQ ID NO: 755 (Chothia)	LCDR2	TACACCTCC
SEQ ID NO: 756 (Chothia)	LCDR3	TACTATAACCTGCCCTGG
SEQ ID NO: 757 (Chothia)	LCDR3	TACTACAACCTGCCCTGG
HC BAP050-клон J		
SEQ ID NO: 758 (Kabat)	HCDR1	AACTACGGGATGAAC
SEQ ID NO: 737 (Kabat)	HCDR1	AACTACGGCATGAAC
SEQ ID NO: 759 (Kabat)	HCDR2	TGGATTAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTAC GCCGACGACTTTAAGGGC
SEQ ID NO: 739 (Kabat)	HCDR2	TGGATCAACACCGACACCGGCGAGCCTACCTAC GCCGACGACTTCAAGGGC
SEQ ID NO: 760 (Kabat)	HCDR3	AACCCCCCCTACTACTACGGCACTAACAACGCCG AGGCTATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Kabat)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
SEQ ID NO: 761 (Chothia)	HCDR1	GGCTTCACCCTGACTAACTAC
SEQ ID NO: 743 (Chothia)	HCDR1	GGCTTCACCCTGACCAACTAC
SEQ ID NO: 744 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGGGAG
SEQ ID NO: 745 (Chothia)	HCDR2	AACACCGACACCGGCGAG
SEQ ID NO: 760 (Chothia)	HCDR3	AACCCCCCCTACTACTACGGCACTAACAACGCCG AGGCTATGGACTAC
SEQ ID NO: 741 (Chothia)	HCDR3	AACCCCCCTTACTACTACGGCACCAACAACGCCG AGGCCATGGACTAT
LC BAP050-клон J		
SEQ ID NO: 746 (Kabat)	LCDR1	AGCTCTAGTCAGGATATCTCTAACTACCTGAAC
SEQ ID NO: 747 (Kabat)	LCDR1	TCCTCCAGCCAGGACATCTCCAACCTACCTGAAC
SEQ ID NO: 748 (Kabat)	LCDR2	TACACTAGCACCTGCACCTG
SEQ ID NO: 749 (Kabat)	LCDR2	TACACCTCCACCCTGCACCTG
SEQ ID NO: 750 (Kabat)	LCDR3	CAGCAGTACTATAACCTGCCCTGGACC
SEQ ID NO: 751	LCDR3	CAGCAGTACTACAACCTGCCCTGGACC

(Kabat)		
SEQ ID NO: 752 (Chothia)	LCDR1	AGTCAGGATATCTCTAACTAC
SEQ ID NO: 753 (Chothia)	LCDR1	AGCCAGGACATCTCCAACCTAC
SEQ ID NO: 754 (Chothia)	LCDR2	TACACTAGC
SEQ ID NO: 755 (Chothia)	LCDR2	TACACCTCC
SEQ ID NO: 756 (Chothia)	LCDR3	TACTATAACCTGCCCTGG
SEQ ID NO: 757 (Chothia)	LCDR3	TACTACAACCTGCCCTGG

Другие иллюстративные ингибиторы LAG-3

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), также известное как BMS986016. BMS-986016 и другие антитела к LAG-3 раскрыты в WO 2015/116539 и US 9505839, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BMS-986016, например, раскрытые в табл. 10.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой TSR-033 (Tesar). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TSR-033.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой MK-4280 (Merck & Co). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи MK-4280.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой REGN3767 (Regeneron). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи REGN3767.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой IMP731 или GSK2831781 (GSK и Prima BioMed). IMP731 и другие антитела к LAG-3 раскрыты в WO 2008/132601 и US 9244059, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи IMP731, например, раскрытые в табл. 10. В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи GSK2831781.

В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 представляет собой IMP761 (Prima BioMed). В одном варианте осуществления молекула антитела к LAG-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи IMP761.

Дополнительные известные антитела к LAG-3 включают антитела, описанные, например, в WO 2008/132601, WO 2010/019570, WO 2014/140180, WO 2015/116539, WO 2015/200119, WO 2016/028672, US 9244059, US 9505839, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к LAG-3 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание с тем же эпитопом на LAG-3, что и одно из антител к LAG-3, описанных в данном документе, и/или связывает его.

В одном варианте осуществления ингибитор, представляющий собой антитело к LAG-3, представляет собой растворимый белок LAG-3, например, IMP321 (Prima BioMed), например, раскрытый в WO 2009/044273, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 10

Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антитела к LAG-3

BMS-986016		
SEQ ID NO: 762	Тяжелая цепь	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIR QPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRTLSDTSKNQF SLKLRVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN YKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK
SEQ ID NO: 763	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQK GQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVFIFPP DEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNS
		QESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
IMP731		
SEQ ID NO: 764	Тяжелая цепь	QVQLKESGPGLVAPSSLSITCTVSGFSLTAYGVNWVRQ PPGKGLEWLGMIWDDGSTDYNSALKSRLSISKDNSKSV FLKMNSLQTDARTYYCAREGDVAFDYWGQGTTLTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 765	Легкая цепь	DIVMTQSPSSSLAVSFGQKVTMSCKSSQLLNGSNQKN YLAWYQQKPGQSPKLLVYFASRTRDSEVPSDFIGSGS GTDFTLTISVQAEDLADYFCLQHFGTPTTFGGGKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Иллюстративные ингибиторы TIM-3

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором TIM-3. Ингибитор TIM-3 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуоадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TIM-3 выбран из MGB453 (Novartis), TSR-022 (Tesar) или LY3321367 (Eli Lilly).

Иллюстративные молекулы антитела к TIM-3

В одном варианте осуществления ингибитор TIM-3 представляет собой молекулу антитела к TIM-3. В одном варианте осуществления ингибитор TIM-3 представляет собой молекулу антитела к TIM-3, раскрытого в US 2015/0218274, опубликованном 6 августа 2015 г. под названием "Antibody Molecules to TIM-3 and Uses Thereof, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть определяющих комплементарность областей (CDR) (или в совокупности все CDR) из варибельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 11 (например, из последовательностей варибельной области тяжелой и легкой цепей АВТІМ3-hum11 или АВТІМ3-hum03, раскрытых в табл. 11), или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 11. В некоторых вариантах осуществления CDR определены в

под SEQ ID NO: 824, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 824. В одном варианте осуществления молекула антитела к TLM-3 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 828, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ID NO: 828. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 808, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 818. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 824, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 828.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 809, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 809. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 819, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 819. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 825, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 825. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 829, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 829. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 809, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 819. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 825, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 829.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в US 2015/0218274, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 11

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных молекул антитела к TIM-3

ABTIM3-hum11		
SEQ ID NO: 801 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 802 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 803	HCDR3	VGGAFPMDY

(Kabat)		
SEQ ID NO: 804 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 805 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 803 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 806	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTS YNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGNGDTSY NQKFKGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDTA VYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 807	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTT TCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTA GCTATAATATGCACTGGGTTCCGCCAGGCC CAGGGCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATA TCTACCCGGGAACGGCGACACTAGTTATA ATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACTATCA CCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATAT GGAAGTACTGAGTTCCCTGAGGTCTGAGGACAC CGCCGCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGG AGCCTCCCTATGGACTACTGGGGTCAAGG CACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 808	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTS YNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGNGDTSY NQKFKGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDTA VYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGKTYTCNV D HKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP

		QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG
SEQ ID NO: 809	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTCAAAGTT TCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTA GCTATAATATGCACTGGGTTCGCCAGGCC CAGGGCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATA TCTACCCCGGGAACGGCGACACTAGTTATA ATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACTATCA CCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATAT GGAAGTGAAGTCCCTGAGGTCTGAGGACAC CGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGG AGCCTTCCCTATGGACTACTGGGGTCAAGG CACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCAC TAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCT TGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCT GCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTAATTCC CGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCG GAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCC CCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTA CGCTGTGCTCGGTGGTACGGTGCCTTCATC TAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAA CGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGT GGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCC ACCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGGAGTTC CTCGGCGGTCCCTCGGTCTTCTGTTCCCAC CGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCC GCACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTTCGTGG ACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGT TCAATTGGTACGTGGATGGCGTTCGAGGTGC ACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAG CAGTTCAACTCCACTTACCGCGTTCGTGTCG TGCTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGA

		ACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCA ACAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGA CCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGG AACCCCAAGTGTATAACCCTGCCACCGAGCC AGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCAT TGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATC GGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG CCAGCCGAAAACA ACTACAAGACCACCCC TCCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTC CTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGC AGATGGCAGGAGGGAAATGTGTTTCAGCTGT TCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCAC TACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGG GA
SEQ ID NO: 810 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 811 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 812 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 813 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 814 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 815 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 816	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASESVEYYG TSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQRK DPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 817	ДНК, кодирующая VL	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCC TGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTA TCACCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGT ACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATC

		AGCAGAAGCCCGGGAAAGCCCCTAAGCTGC TGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAG CCTGCAGCCCGAGGACTTCGCTACCTACTTC TGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACC TTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 818	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLASVGDRTITCRASESVEYYG TSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQRK DPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 819	ДНК, кодирующая легкую цепь	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCC TGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTA TCACCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGT ACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATC AGCAGAAGCCCGGGAAAGCCCCTAAGCTGC TGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCGGTA GTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAG CCTGCAGCCCGAGGACTTCGCTACCTACTTC TGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACC TTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATTAAG CGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCT TCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCG GCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGT GGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC AACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAG CACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGAC CCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAA

		GAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum03		
SEQ ID NO: 801 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 820 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 803 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 804 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 821 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 803 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 822	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQGDTSYN QKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARVGGAFPMDYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 823	ДНК, кодирующая VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTT AGCTGTAAAGCTAGTGGCTATACTTTCACCT CTTATAATATGCACTGGGTCCGCCAGGCC CAGGTCAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATA TCTACCCCGGTCAAGGCGACACTTCCTATA ATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACTATGA CCGCCGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATAT GGAAGTGAAGTTCCTGAGGTCTGAGGACAC CGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGG AGCCTTCCCAATGGACTACTGGGGTCAAGG CACCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 824	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQGDTSYN QKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCARVGGAFPMDYWGQGLVTVSSASTK

		<p>GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG</p>
SEQ ID NO: 825	ДНК, кодирующая тяжелую цепь	<p>CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAA GTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTT AGCTGTAAAGCTAGTGGCTATACTTTCACTT CTTATAATATGCACTGGGTCCGCCAGGCC CAGGTCAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATA TCTACCCCGGTCAAGGCGACACTTCCTATA ATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACTATGA CCGCCGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATAT GGAAGTGTCCCTGAGGTCTGAGGACAC CGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGG AGCCTTCCAATGGACTACTGGGGTCAAGG CACCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACT AAGGGCCCCTCGTGTTCCTCCCGTGGCACCTT GTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTG CCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCC GGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGG AGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCC CGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTA GCTGTGCTCGGTGGTACGGTGCCTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAAC GTGGACCACAAGCCTCCAACACTAAGGTG GACAAGCGGTCGAATCGAAGTACGGCCCA CCGTGCCCGCCTTGTCCCGCGCCGAGTTCC TCGGCGGTCCCTCGGTCTTCTGTTCAC</p>

		GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTCCCG CACCCCTGAAGTGACATGCGTGGTCGTGGA CGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTT CAATTGGTACGTGGATGGCGTCGAGGTGCA CAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGC AGTTCAACTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGT GCTGACGGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAA CGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAA CAAGGGACTTCCTAGCTCAATCGAAAAGAC CATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGA ACCCCAAGTGTATAACCCTGCCACCGAGCCA GGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCG GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGC CAGCCGAAAACAACACTACAAGACCACCCT CCGGTGCTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCC TCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCA GATGGCAGGAGGGAAATGTGTTCAGCTGTT CTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGG A
SEQ ID NO: 810 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 811 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 812 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 813 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 814 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 815 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 826	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYY

		GTSLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVP DRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQS RKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 827	ДНК, кодирующая VL	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGC CTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACT ATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAG TACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTG CTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCA GGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGT AGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTCTAC TACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGC ACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATT AAG
SEQ ID NO: 828	Легкая цепь	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYY GTSLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVP DRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQS RKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 829	ДНК, кодирующая легкую цепь	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGC CTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACT ATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAG TACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTG CTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCA GGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCGGT AGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGT AGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTCTAC TACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGC ACCTTCGGCGGAGGCACTAAGGTCGAGATT AAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTT ATCTTCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAG

		AGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTG AACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTG CAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCCGAGCA GGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAG CAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTA CGAGAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGT GACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGAC CAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
--	--	--

Другие иллюстративные ингибиторы TIM-3

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 представляет собой TSR-022 (AnartysBio/Tesaro). В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TSR-022. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи APE5137 или APE5121, например, раскрытые в табл. 12. APE5137, APE5121 и другие антитела к TIM-3 раскрыты в WO 2016/161270, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 представляет собой LY3321367 (Eli Lilly). В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи LY3321367.

В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 представляет собой клон антитела F38-2E2. В одном варианте осуществления молекула антитела к TIM-3 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи F38-2E2.

Дополнительные известные антитела к TIM-3 включают антитела, описанные, например, в WO 2016/111947, WO 2016/071448, WO 2016/144803, US 8552156, US 8841418 и US 9163087, включенных посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к TIM-3 представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание с тем же эпитопом на TIM-3, что и одно из антител к TIM-3, описанных в данном документе, и/или связывает его.

Таблица 12

Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антитела к TIM-3

APE5137		
SEQ ID NO: 830	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVR QAPGKGLDWVSTISGGGTYTYQDSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMDYWGQGT VTVSSA
SEQ ID NO: 831	VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSIRRYLNWYHQKP GKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLT LTISSLQPED FAVYYCQQSHSAPLTFGGG TKVEIKR
APE5121		
SEQ ID NO: 832	VH	EVQVLES GGGLVQPGGSLRLYCVASGFTFSGSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAK KYYVGPADYWGQGLVT VSSG
SEQ ID NO: 833	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQHKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFLT L ISSLQAEDVAVYYCQQYYSSPLTFGGG TKIEVK

Иллюстративные ингибиторы CTLA-4

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором CTLA-4. Ингибитор CTLA-4 может представлять собой ан-

титело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (Yervoy®, Bristol-Myers Squibb) или тремелиумаб (Pfizer). Антитело ипилимумаб и другие антитела к CTLA-4 раскрыты в патенте США № 6984202, включенном в настоящий документ посредством ссылки. Антитело тремелиумаб и другие антитела к CTLA-4 раскрыты в патенте США № 7411057, включенном в настоящий документ посредством ссылки.

Иллюстративные агонисты GITR

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с агонистом GITR. Агонист GITR может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления агонист GITR представляет собой GWN323 (Novartis), BMS-986156 (BMS), MK-4166 или MK-1248 (Merck), TRX518 (Leap Therapeutics), INCAGN1876 (Incyte/Agenus), AMG 228 (Amgen) или INBRX-110 (Inhibrx).

Иллюстративные молекулы антитела к GITR

В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой молекулу антитела к GITR. В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой молекулу антитела к GITR, описанную в WO 2016/057846, опубликованной 14 апреля 2016 г. под названием "Compositions and Methods of Use for Augmented Immune Response and Cancer Therapy", включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть определяющих комплементарность областей (CDR) (или в совокупности все CDR) из варибельной области тяжелой и легкой цепей, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 13 (например, из последовательностей варибельной области тяжелой и легкой цепей MAB7, раскрытых в табл. 13), или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 13. В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Kabat (например, как изложено в табл. 13). В некоторых вариантах осуществления CDR определены в соответствии со схемой нумерации по Chothia (например, как изложено в табл. 13). В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например, аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) или делеций по сравнению с аминокислотной последовательностью, показанной в табл. 13, или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 13.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит варибельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1 под SEQ ID NO: 909, аминокислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 911 и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 913; и варибельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 914, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 916 и аминокислотную последовательность VLCDR3 под SEQ ID NO: 918, каждая из которых раскрыта в табл. 13.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 901 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 901. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 902 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 902. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит VH, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 901, и VL, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 902.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 905 или нуклеотидную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 905. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 906 или нуклеотидную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 906. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 905, и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 906.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 903 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 903. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 904 или аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 904. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 903, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 904.

В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 907 или нуклеотидную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 907. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 908 или нуклеотидную последовательность, на по меньшей мере 85%, 90%, 95%, или 99% или больше идентичную SEQ ID NO: 908. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит тяжелую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 907, и легкую цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью под SEQ ID NO: 908.

Молекулы антител, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в WO 2016/057846, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 13

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративной молекулы антитела к GITR

MAB7		
SEQ ID NO: 901	VH	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFSLS SYGVDWVRQAPGKGLEWVGVIWGGGGT YYASSLMGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARHAYGHDGGFAMDYWGQ GTLVTVSS
SEQ ID NO: 902	VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASESVSS NVAWYQQRPGQAPRLLIYGASNRATGIPA RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCGQS YSYPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 903	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVQSGGSLRLSCAASGFSLS SYGVDWVRQAPGKGLEWVGVIWGGGGT YYASSLMGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR

		<p>AEDTAVYYCARHAYGHDGGFAMDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p>
SEQ ID NO: 904	Легкая цепь	<p>EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASESVSS NVAWYQQRPGQAPRLLIYGASNRATGIPA RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCGQS YSYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC</p>
SEQ ID NO: 905	ДНК, кодирующая VH	<p>GAGGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGTCCGGCGGCTCTCTGAG ACTGTCTTGCCTGCCTCCGGCTTCTCCC TGTCCTCTTACGGCGTGGACTGGGTGCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGG TGGGAGTGATCTGGGGCGGAGGCGGCAC CTACTACGCCTTCCCTGATGGGCCGGT TCACCATCTCCCGGACAACCTCAAGAA CACCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTAATACTG CGCCAGACACGCCTACGGCCACGACGGC GGCTTCGCCATGGATTATTGGGGCCAGG GCACCTGGTGACAGTGTCTCC</p>
SEQ ID NO: 906	ДНК,	<p>GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGCCA</p>

	<p>кодирующая VL</p>	<p>CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCGAGTCCG TGTCTCCAACGTGGCCTGGTATCAGCAG AGACCTGGTCAGGCCCTCGGCTGCTGAT CTACGGCGCCTCTAACCGGGCCACCGGC ATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCCGGCAG CGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCC GGCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTA CTACTGCGGCCAGTCTACTCATACCCCT TCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGA AATCAAG</p>
<p>SEQ ID NO: 907</p>	<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь</p>	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCG GACTGGTGCAGTCCGGCGGCTCTCTGAG ACTGTCTTGCCTGCCTCCGGCTTCTCCC TGTCTCTTACGGCGTGGACTGGGTGCGA CAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGG TGGGAGTGATCTGGGGCGGAGGCGGCAC CTACTACGCCTCTCCCTGATGGGCCGGT TCACCATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAA CACCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTA ACTG CGCCAGACACGCCTACGGCCACGACGGC GGCTTCGCCATGGATTATTGGGGCCAGG GCACCCTGGTGACAGTGTCTCCGCTAGC ACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGC CCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGA ACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGG ACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCC TGGA ACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGC AGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGG TGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACC CAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAG AGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC</p>

		CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGA ACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCAAGCCAAGGACACCCTGAT GATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACC CAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACC AAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCA CCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAG AATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGC CCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATC AGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCG GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCC CTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCC CAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGA CCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCG TGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAA CGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 908	ДНК, кодирующая легкую цепь	GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCGCCA CCCTGTCTGTGTCTCCCGGCGAGAGAGCC ACCCTGAGCTGCAGAGCCTCCGAGTCCG TGTCTCCAACGTGGCCTGGTATCAGCAG AGACCTGGTCAGGCCCCCTCGGCTGCTGAT CTACGGCGCCTCTAACCGGGCCACCGGC ATCCCTGCCAGATTCTCCGGCTCCGGCAG CGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCC GGCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTA CTACTGCGGCCAGTCTACTCATACCCCT TCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGA

		AATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGC GTGTTCACTTCCCCCAGCGACGAGCA GCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTG TGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGGGA GGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGA GCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTC CACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATA AGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCA GGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGC TTCAACAGGGGCGAGTGC
SEQ ID NO: 909 (KABAT)	HCDR1	SYGVD
SEQ ID NO: 910 (CHOTHIA)	HCDR1	GFSLSSY
SEQ ID NO: 911 (KABAT)	HCDR2	VIWGGGGTYIASSLMG
SEQ ID NO: 912 (CHOTHIA)	HCDR2	WGGGG
SEQ ID NO: 913 (KABAT)	HCDR3	HAYGHDGGFAMDY
SEQ ID NO: 913 (CHOTHIA)	HCDR3	HAYGHDGGFAMDY
SEQ ID NO: 914 (KABAT)	LCDR1	RASESVSSNVA
SEQ ID NO: 915 (CHOTHIA)	LCDR1	SESVSSN
SEQ ID NO: 916 (KABAT)	LCDR2	GASNRAT
SEQ ID NO: 917 (CHOTHIA)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 918 (KABAT)	LCDR3	GQSYSYPFT
SEQ ID NO: 919 (CHOTHIA)	LCDR3	SYSYPF

Другие иллюстративные агонисты GITR

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой BMS-986156 (Bristol-Myers Squibb), также известный как BMS 986156 или BMS986156. BMS-986156 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 9228016 и WO 2016/196792, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи BMS-986156, например, раскрытые в табл. 14.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой МК-4166 или МК-

1248 (Merck). МК-4166, МК-1248 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 8709424, WO 2011/028683, WO 2015/026684 и Mahne et al. *Cancer Res.* 2017; 77(5):1108-1118, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи МК-4166 или МК-1248.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой TRX518 (Leap Therapeutics). TRX518 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 7812135, US 8388967, US 9028823, WO 2006/105021 и Ponte J et al. (2010) *Clinical Immunology*; 135:S96, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи TRX518.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой INCAGN1876 (Incyte/Agenus). INCAGN1876 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 2015/0368349 и WO 2015/184099, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи INCAGN1876.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой AMG 228 (Amgen). AMG 228 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 9464139 и WO 2015/031667, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи AMG 228.

В одном варианте осуществления молекула антитела к GITR представляет собой INBRX-110 (Inhibrx). INBRX-110 и другие антитела к GITR раскрыты, например, в US 2017/0022284 и WO 2017/015623, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления агонист GITR содержит одну или несколько последовательностей CDR (или в совокупности все последовательности CDR), последовательность варибельной области тяжелой цепи или легкой цепи или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи INBRX-110.

В одном варианте осуществления агонист GITR (например, слитый белок) представляет собой MEDI 1873 (MedImmune), также известный как MEDI1873. MEDI 1873 и другие агонисты GITR раскрыты, например, в US 2017/0073386, WO 2017/025610 и Ross et al. *Cancer Res* 2016; 76(14 Suppl): Abstract № 561, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления агонист GITR содержит один или несколько из Fc-домена IgG, функционального домена для мультимеризации и домена для связывания с рецептором из индуцируемого глюкокортикоидами лиганда рецептора TNF (GITRL) MEDI 1873.

Дополнительные известные агонисты GITR (например, антитела к GITR) включают описанные, например, в WO 2016/054638, включенной посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления антитело к GITR представляет собой антитело, которое конкурирует за связывание с тем же эпитопом на GITR, что и одно из антител к GITR, описанных в данном документе, и/или связывает его.

В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой пептид, который активирует путь передачи сигнала посредством GITR. В одном варианте осуществления агонист GITR представляет собой иммуноадгезинсвязывающий фрагмент (например, иммуноадгезинсвязывающий фрагмент, содержащий внеклеточную или GITR-связывающую часть GITRL), слитый с константной областью (например, последовательностью Fc-области иммуноглобулина).

Таблица 14

Аминокислотные последовательности других иллюстративных молекул антитела к GITR

BMS-986156		
SEQ ID NO: 920	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAIVWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYYGMD VWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 921	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQQKP GKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQFNSYPYTFGQGTKLEIK

Иллюстративные молекулы полиспецифического антитела к CD3

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с молекулой полиспецифического антитела к CD3 (например, молекулой биспецифического антитела к CD3). В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела к CD3 связывается с CD3 и опухолевым антигеном-мишенью (ТТА). В одном варианте осуществления ТТА выбран из CD19, CD20, CD38 или CD123. В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела к CD3 имеет формат, раскрытый на фиг. 1A, 1B, 1C и 125 в WO 2016/182751, включенной в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В одном варианте осуществления молекула полиспецифического антитела к CD3 представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3×CD123, например, XENP14045 (например, как указано в табл. 15), или молекулу биспецифического антитела к CD3×CD123, раскрытого в WO 2016/086189 или WO 2016/182751, включенных в данный документ посредством ссылки во всей их полноте. В одном варианте осуществления молекула биспецифического антитела к CD3×CD123 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи, или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи XENP14045, или аминокислотную последовательность, по сути идентичную им (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности с ними).

В одном варианте осуществления полиспецифического антитела к CD3 представляет собой молекулу биспецифического антитела к CD3×CD20, например, XENP13676 (например, как указано в табл. 15), или молекулу биспецифического антитела к CD3×CD20, раскрытого в WO 2016/086189 или WO 2016/182751, включенных в данный документ посредством ссылки во всей их полноте. В одном варианте осуществления молекула биспецифического антитела к CD3×CD20 содержит одну или несколько последовательностей CDR (или все последовательности CDR), последовательность вариабельной области тяжелой цепи или легкой цепи, или последовательность тяжелой цепи или легкой цепи XENP13676, или аминокислотную последовательность, по сути идентичную им (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности с ними).

Таблица 15

Аминокислотные последовательности иллюстративных молекул биспецифического антитела к CD3

XENP14045 (Fab-scFv-Fc антитела	к	
---------------------------------------	---	--

CD123 x CD3)		
SEQ ID NO: 177	Тяжелая цепь 1 (Fab-Fc антитела к CD123)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY YMKWVKQSHGKSLEWMGDIIPSNNGATFYNQKF KGKATLTVDRSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCA RSHLLRASWFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTHTCP PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEE YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 178	Тяжелая цепь 2 (scFv-Fc антитела к CD3)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYAD SVKGRFTISRDDSKNTLYIQMNSIRAEDTAVYY CVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVSSGKPG SGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLI GGTNKRAPGVPARFSGSLGGAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSD KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REQMTKNQVCLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 179	Легкая цепь	DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLTGN QKNYLTWYQQKPGQPPELLIYWASTRESGVPDR FTGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQNDYSYP YTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPRQAKVQWKVDNALQSGNSQES

		VTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
XENP13676 (Fab-scFv-Fc антитела к CD20 x CD3)		
SEQ ID NO: 180	Тяжелая цепь 1 (Fab-Fc)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSY NMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNQK FQGRVTITADKSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCA RSTYYGGDWYFNVWGAGTLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTHTC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE EYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSI.TCDVSGFYPSDIAVEWESDGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 181	Тяжелая цепь 2 (scFv-Fc)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYA MNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYAD SVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPG SGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPLTVSPGGT VTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLI GGTNKRAPGVPARFSGSLLGGAALTISGAQPE DEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSD KTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REQMTKNQVCLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 182	Легкая цепь	QIVLTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVSYIHW QQKPGKSPKPLIYATSNLASGVPVRFSGSGSD YTLTISSLQPEDFATYYCQQWTSNPPTFGGGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

Иллюстративные комплексы IL15/IL-15Ra

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с комплексом IL-15/IL-15Ra. В некоторых вариантах осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra выбран из NIZ985 (Novartis), ATL-803 (Altor) или CYP0150 (Cytune).

Иллюстративные комплексы IL-15/IL-15Ra

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит IL-15 человека в комплексе с растворимой формой IL-15Ra человека. Комплекс может содержать IL-15, ковалентно или нековалентно связанный с растворимой формой IL-15Ra. В конкретном варианте осуществления IL-15 человека нековалентно связан с растворимой формой IL-15Ra. В конкретном варианте осуществления IL-15 человека из композиции содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 183 из табл. 16, и растворимая форма IL-15Ra содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 184 из табл. 16, описанные в WO 2014/066527, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. Молекулы, описанные в данном документе, можно получать с использованием векторов, клеток-хозяев и способов, описанных в WO 2007/084342, включенном посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 16

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности иллюстративных комплексов IL-15/IL-15Ra

NIZ985			
SEQ ID NO: 183	IL-15 человека		NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSS NGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
SEQ ID NO: 184	Растворимый IL-15Ra человека		ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAG TSSLTECVLNKATNVANHWTPSLKCIKIRDPALVHQRPA PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATT AAIVPGSQLMPKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKN WELTASASHQPPGVYPQG

Другие иллюстративные комплексы IL-15/IL-15Ra

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra представляет собой ALT-803, слитый белок на основе IL-15/IL-15Ra и Fc (растворимый комплекс IL-15N72D:IL-15RaSu/Fc). ALT-803 описан в WO 2008/143794, включенном посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления слитый белок на основе IL-15/IL-15Ra и Fc содержит последовательности, раскрытые в табл. 17.

В одном варианте осуществления комплекс IL-15/IL-15Ra содержит IL-15, слитый с доменом sushi IL-15Ra (CYP0150, Cytune). Домен sushi IL-15Ra относится к домену, начинающемуся с первого цистеинового остатка после сигнального пептида IL-15Ra и заканчивающемуся четвертым цистеиновым остатком после указанного сигнального пептида. Комплекс IL-15, слитого с доменом sushi IL-15Ra, раскрыт в WO 2007/04606 и WO 2012/175222, включенных посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления слитый белок IL-15/домен sushi IL-15Ra содержит последовательности, раскрытые в табл. 17.

Таблица 17

Аминокислотные последовательности других иллюстративных комплексов IL-15/IL-15Ra

ALT-803 (Altor)			
SEQ ID NO: 185	IL-15N72D	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANDSLSSNGNV TESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	
SEQ ID NO: 186	IL- 15RaSu/Fc	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTS SLTECVLNKATNVANHWTPSLKCIREPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
Слитый белок IL-15/домен sushi IL-15Ra (Cytune)			
SEQ ID NO: 187	IL-15 человека	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNV TESGCKECEELEXKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS Где X представляет собой E или K	
SEQ ID NO: 188	Домен sushi и шарнирный домен IL- 15Ra человека	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTS SLTECVLNKATNVANHWTPSLKCIRD PALVHQRAPP	

Иллюстративные агонисты STING

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с агонистом STING. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, рака молочной железы, плоскоклеточной карциномы, меланомы, рака яичника, карциномы фаллопиевой трубы, перитонеальной карциномы, саркомы мягких тканей, рака пищевода, рака головы и шеи, рака эндометрия, рака шейки матки или базальноклеточной карциномы), например, гематологического злокачественного новообразования (например, лейкоза (например, хронического лимфолейкоза (CLL) или лимфомы (например, В-клеточной лимфомы маргинальной зоны, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы)). В некоторых вариантах осуществления рак выбран из рака головы и шеи (например, плоскоклеточной карциномы головы и шеи (HNSCC), рака кожи (например, меланомы), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой циклический динуклеотид, например, циклический динуклеотид, который содержит пуриновые или пиримидиновые нуклеотидные основания (например, аденозиновые, гуаниновые, урациловые, тиминового или цитозинового нуклеотидные основания). В некоторых вариантах осуществления нуклеотидные основания циклического динуклеотида предусматривают одно и то же нуклеотидное основание или разные нуклеотидные основания.

В некоторых вариантах осуществления агонист STING содержит аденозиновые или гуанозиновые нуклеотидные основания. В некоторых вариантах осуществления агонист STING содержит одно аденозиновое нуклеотидное основание и одно гуанозиновое нуклеотидное основание. В некоторых вариантах осуществления агонист STING содержит два аденозиновых нуклеотидных основания или два гуанозиновых нуклеотидных основания.

В некоторых вариантах осуществления агонист STING включает модифицированный циклический

динуклеотид, например, содержащий модифицированное нуклеотидное основание, модифицированную рибозу или модифицированную фосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления модифицированный циклический динуклеотид содержит модифицированную фосфатную связь, например, тиофосфат.

В некоторых вариантах осуществления агонист STING содержит циклический динуклеотид (например, модифицированный циклический динуклеотид) с 2',5'- или 3',5'-фосфатными связями. В некоторых вариантах осуществления агонист STING включает циклический динуклеотид (например, модифицированный циклический динуклеотид) со стереохимией Rp или Sp вокруг фосфатных связей.

В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой Rp, Rp-дитио-2',3'-c-di-AMP (например, Rp, Rp-дитио-c-[A(2',5')pA(3',5')p]) или его циклический динуклеотидный аналог. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой соединение, показанное в патентной публикации США № US2015/0056224 (например, соединение на фиг. 2с, например, соединение 21 или соединение 22). В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой c-[G(2',5')pG(3',5')p], его O-замещенное производное дитиорибозы или представляет собой соединение, показанное на фиг. 4 публикаций согласно PCT №№ WO 2014/189805 и WO 2014/189806. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой c-[A(2',5')pA(3',5')p] или его O-замещенное производное дитиорибозы или представляет собой соединение, показанное на фиг. 5 публикаций согласно PCT №№ WO 2014/189805 и WO 2014/189806. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой c-[G(2',5')pA(3',5')p] или его O-замещенное производное дитиорибозы или представляет собой соединение, показанное на фиг. 5 публикаций согласно PCT №№ WO 2014/189805 и WO 2014/189806. В некоторых вариантах осуществления агонист STING представляет собой 2'-0-пропаргил-циклический-[A(2',5')pA(3',5')p] (2'-0-пропаргил-ML-CDA) или соединение, показанное на фиг. 7 публикации согласно PCT № WO 2014/189806.

Другие иллюстративные агонисты STING раскрыты, например, в публикациях согласно PCT №№ WO 2014/189805 и WO 2014/189806 и публикации США № 2015/0056225.

Иллюстративные средства, связывающие CSF-1/1R

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации со средством, связывающим CSF-1/1R. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например рака, описанного в данном документе, например солидной опухоли (например, рака предстательной железы, рака молочной железы или пигментного вилонодулярного синовита (PVNS)).

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой ингибитор макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF). M-CSF также иногда известен как CSF-1.

В другом варианте осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой ингибитор тирозинкиназы CSF-1R, 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2005/073224. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из рака головного мозга (например, мультиформной глиобластомы (GBM)), рака поджелудочной железы или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В другом варианте осуществления средство, связывающее CSF-1/1R (например, ингибитор тирозинкиназы CSF-1R, 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2005/073224, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73).

В определенных вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R (например, ингибитор тирозинкиназы CSF-1R), 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2005/073224, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73) для лечения рака, например, солидной опухоли (например, солидной опухоли на поздней стадии), например, рака мозга (например, мультиформной глиобластомы (GBM), например, рецидивирующей глиобластомы), рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (например, TNBC)) или рака поджелудочной железы (например, рака поджелудочной железы на поздней стадии).

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой ингибитор M-CSF, соединение A33 или средство, связывающее CSF-1, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2004/045532 или публикации согласно PCT № WO 2005/068503, в том числе RX1 или 5H4 (например, молекула антитела или фрагмент Fab к M-CSF). В некоторых вариантах осуществления рак выбран из рака эндометрия, рака кожи (например, меланомы), рака поджелудочной железы или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой ингибитор CSF1R или 4-(2-((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензотиазол-6-илокси)-N-метилпиколинамид 4-(2-((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензотиазол-6-илокси)-N-метилпиколинамид раскрыт как пример 157 на странице 117 публикации согласно PCT № WO 2007/121484.

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой пексидартиниб (регистрационный номер CAS 1029044-16-3). Пексидартиниб также известен как PLX3397 или 5-((5-хлор-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)метил)-N-((6-(трифторметил)пиридин-3-ил)метил)пиридин-2-амин. Пексидартиниб является низкомолекулярным ингибитором рецепторных тирозинкиназ (RTK) KIT, CSF1R и FLT3. В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, например, пексидартиниб, применяют в комбинации с ингибитором CD73, например, молекулой антитела к CD73, описанной в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой эмактузумаб. Эмактузумаб также известен как RG7155 или RO5509554. Эмактузумаб является гуманизированным mAb IgG1, нацеливающимся на CSF1R. В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, например, пексидартиниб, применяют в комбинации с ингибитором CD73, например, молекулой антитела к CD73, описанной в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, представляет собой FPA008. FPA008 является гуманизированным mAb, которое ингибирует CSF1R. В некоторых вариантах осуществления средство, связывающее CSF-1/1R, например, FPA008, применяют в комбинации с ингибитором CD73, например, молекулой антитела к CD73, описанной в данном документе.

Иллюстративные ингибиторы IDO/TDO

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, меланомы, немелкоклеточного рака легкого, рака толстой кишки, плоскоклеточного рака головы и шеи, рака яичника, рака брюшины, рака фаллопиевой трубы, рака молочной железы (например, метастатического или НЕК2-негативного рака молочной железы)), например, гематологического злокачественного новообразования (например, лимфомы, например, неходжкинской лимфомы или лимфомы Ходжкина (например, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL))).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO выбран из (4E)-4-[(3-хлор-4-фторанилино)нитросометилиден]-1,2,5-оксадиазол-3-амин (также известного как INCB24360), индоксимода (1-метил-D-триптофана) или α -циклогексил-5H-имидазо[5,1-a]изоиндол-5-этанола (также известного как NLG919).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO представляет собой эпикадостат (регистрационный номер CAS: 1204669-58-8). Эпикадостат также известен как INCB24360 или INCB024360 (Incyte). Эпикадостат представляет собой мощный и избирательный ингибитор индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO1) с IC50 10 нМ, с высокой избирательностью по сравнению с другими родственными ферментами, такими как IDO2 или триптофан-2,3-диоксигеназа (TDO).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO представляет собой индоксимод (New Link Genetics). Индоксимод, D-изомер 1-метил-триптофана, является перорально вводимым низкомолекулярным ингибитором пути индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), который нарушает механизмы, благодаря которым опухоли избегают иммуноопосредованного разрушения.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO представляет собой NLG919 (New Link Genetics). NLG919 является мощным ингибитором пути IDO (индоламин-(2,3)-диоксигеназы) с Ki/EC50 7 нМ/75 нМ в бесклеточных анализах.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IDO/TDO представляет собой F001287 (Flexus/BMS). F001287 является низкомолекулярным ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы 1 (IDO1).

Иллюстративные ингибиторы TGF- β

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором трансформирующего фактора роста бета (TGF- β). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, рака головного мозга (например, глиомы), меланомы, рака почки (например, почечно-клеточной карциномы), злокачественной мезотелиомы плевры (например, рецидивирующей злокачественной мезотелиомы плевры) или рака молочной железы (например, метастатического рака молочной железы)). В определенных вариантах осуществления рак выбран из колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS CRC), рака печени (например, гепатоцеллюлярной карциномы), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (HNSCLC)), рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)), рака с экспрессией TGF- β , рака поджелудочной железы, рака предстательной железы или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы).

TGF- β относится к большому семейству структурно родственных цитокинов, включающему, например, костные морфогенетические белки (BMP), факторы роста и дифференцировки, активины и ингибины. В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе ингибиторы TGF- β могут связывать и/или ингибировать одну или несколько изоформ TGF- β (например, одну, две или все из

TGF- β 1, TGF- β 2 или TGF- β 3).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор TGF- β представляет собой фрезолимумаб (регистрационный номер CAS: 948564-73-6). Фрезолимумаб также известен как GC1008. Фрезолимумаб представляет собой моноклональное антитело человека, которое связывается и ингибирует изоформы 1, 2 и 3 TGF-бета.

Тяжелая цепь фрезолимумаба характеризуется аминокислотной последовательностью:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSNVISWVRQAPGQGLEWMGGVPIVDIA
 NYAQRFKGRVTITADESTSTTYMELSSLRSEDTAVYYCASTLGLVLDAMDYWGQGTTLV
 TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG
 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSRLTVD
 KSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 172).

Легкая цепь фрезолимумаба характеризуется аминокислотной последовательностью:

ETVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAPGIP
 DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYADSPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPS
 DEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL
 TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 173).

Фрезолимумаб раскрыт, например, в WO 2006/086469, US 8383780 и US 8591901.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор TGF- β представляет собой ХОМА 089. ХОМА 089 также известен как ХРА.42.089. ХОМА 089 представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело, которое связывает и нейтрализует лиганды TGF-бета 1 и 2.

Вариабельная область тяжелой цепи ХОМА 089 имеет аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTAN
 YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLWEVRALPSVYWGQGTTLV
 TVSS (SEQ ID NO: 174) (раскрыта под SEQ ID NO: 6 в WO 2012/167143).

Вариабельная область легкой цепи ХОМА 089 имеет аминокислотную последовательность:

SYELTQPPSVSVAPGQTARITCGANDIGSKSVHWYQQKAGQAPVLVSEDIIRPSGIPERI
 SGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDRDSDQYVFGTGTKVTVLG (SEQ ID NO:
 175)

(раскрыта под SEQ ID NO: 8 в WO 2012/167143).

В определенных вариантах осуществления комбинация содержит ингибитор CD73 (например, молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе) и ингибитор TGF- β (например, ингибитор TGF- β , описанный в данном документе).

В одном варианте осуществления комбинация содержит ингибитор TGF- β , ХОМА 089 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2012/167143, и ингибитор CD73 (например, антитело к CD73, описанное в данном документе).

В одном варианте осуществления ингибитор TGF- β , ХОМА 089 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2012/167143, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73) для лечения рака поджелудочной железы, колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS-CRC)), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы), рака печени (например, гепатоцеллюлярная карцинома), рака предстательной железы или рака почки (например, светлоклеточной почечно-клеточной карциномы).

Иллюстративные ингибиторы VEGFR

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (например, ингибитором одного или нескольких из VEGFR (например, VEGFR-1, VEGFR-2 или VEGFR-3) или VEGF). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, меланомы, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака пищевода, желудочно-кишечной стромальной опухоли (GIST) рака почки (например, почечно-клеточной карциномы), рака печени, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), рака яичника, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы или рака желудка), например, гематологического злокачественного новообразования (например, лимфомы).

В других вариантах осуществления ингибитор VEGFR представляет собой ваталаниба сукцинат (соединение A47) или соединение, раскрытое в EP 296122.

В другом варианте осуществления ингибитор VEGFR представляет собой один или несколько из VEGFR-2, PDGFRбета, KIT или киназы Raf C, 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединения А37) или соединения, раскрытого в публикации согласно РСТ № WO 2007/030377.

Другие иллюстративные ингибиторы пути VEGFR, которые можно применять в комбинациях, раскрытых в данном документе, включают, например, бевацизумаб (AVASTIN®), акситиниб (INLYTA®); бриваниба аланинат (BMS-582664, (S)-(R)-1-(4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-5-метилпирроло [2,1-f][1,2,4]триазин-6-илокси)пропан-2-ил)2-аминопропаноат); сорафениб (NEXAVAR®); пазопаниб (VOTRIENT®); сунитиниб малат (SUTENT®); цедираниб (AZD2171, CAS 288383-20-1); варгатеф (BIBF1120, CAS 928326-83-4); форетиниб (GSK1363089); телатиниб (BAY57-9352, CAS 332012-40-5); апатиниб (YN968D1, CAS 811803-05-1); иматиниб (GLEEVEC®); понатиниб (AP24534, CAS 943319-70-8); тивозаниб (AV951, CAS 475108-18-0); регорафениб (BAY73-4506, CAS 755037-03-7); ваталаниба дигидрохлорид (PTK787, CAS 212141-51-0); бриваниб (BMS-540215, CAS 649735-46-6); вандетаниб (CAPRELSA® или AZD6474); дифосфат мотесаниб (AMG706, CAS 857876-30-3, N-(2,3-дигидро-3,3-диметил-1H-индол-6-ил)-2-[[4-(4-пиридинилметил)амино]-3-пиридинкарбоксамид, описанный в публикации согласно РСТ № WO 02/066470); линфаниб (ABT869, CAS 796967-16-3); кабозантиниб (XL184, CAS 849217-68-1); лестауртиниб (CAS 111358-88-4); N-[5-[[[5-(1,1-диметилэтил)-2-оксазолил]метил]тио]-2-тиазолил]-4-пиперидинкарбоксамид (BMS38703, CAS 345627-80-7); (3R, 4R)-4-амино-1-((4-((3-метокси фенил)амино)пирроло[2,1-e][1,2,4]триазин-5-ил)метил)пиперидин-3-ол (BMS690514); N-(3,4-дихлор-2-фторфенил)-6-метокси-7-[[3α, 5β, 6α)октагидро-2-метилциклопента[с]пиррол-5-ил]метокси]-4-хиназолинамин (XL647, CAS 781613-23-8); 4-метил-3-[[1-метил-6-(3-пиридинил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4-ил]амино]-N-[3-(трифторметил)фенил]-бензамид (BHG712, CAS 940310-85-0); афлиберцепт (EY-LEA®) и эндостатин (ENDOSTAR®).

Иллюстративные антитела к VEGF, которые можно применять в раскрытых в данном документе комбинациях, включают, например, моноклональное антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и моноклональное антитело к VEGF A4.6.1, полученное из гибридомы ATCC FIB 10709; рекомбинантное гуманизованное моноклональное антитело к VEGF, полученное в соответствии с Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599. В одном варианте осуществления антитело к VEGF представляет собой бевацизумаб (BV), также известный как ρ hMAb VEGF или AVASTIN®. Он содержит мутированные каркасные области человеческого IgG1 и антигенсвязывающие определяющие комплементарность области из мышинового моноклонального антитела к hVEGF A.4.6.1, которое блокирует связывание VEGF человека с его рецепторами. Бевацизумаб и другие гуманизованные антитела к VEGF дополнительно описаны в патенте США № 6884879, поданном 26 февраля 2005 г. Дополнительные антитела включают антитела серии G6 или B20 (например, G6-31, B20-4.1), описанные в публикации согласно РСТ № WO2005/012359, публикации согласно РСТ № WO2005/044853, содержание этих патентных заявок явным образом включено в настоящий документ посредством ссылки. Для рассмотрения дополнительных антител см. патенты США №№ 7060269, 6582959, 6703020, 6054297, WO98/45332, WO 96/30046, WO94/10202, EP 0666868B1, публикации заявок на патент США № 2006/009360, 2005/0186208, 2003/0206899, 2003/0190317, 2003/0203409 и 2005/0112126; и Popkov et al, Journal of Immunological Methods 288: 149-164 (2004). Другие антитела включают антитела, которые связываются с функциональным эпитопом на VEGF чел овека, содержащим остатки F17, M1 8, D19, Y21, Y25, Q89, 191, K1 01, E1 03 и S104 или, альтернативно, содержащим остатки F17, Y21, Q22 Y25, D63, 183 и Q89.

Иллюстративные ингибиторы с-MET

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором с-MET. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, немелкоклеточного рака легкого, рака поджелудочной железы, рака печени, рака щитовидной железы (например, анапластической карциномы щитовидной железы), опухоли головного мозга (например, глиобластомы), рака почки (например, почечно-клеточной карциномы) или рака головы и шеи (например, плоскоклеточной карциномы головы и шеи). В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак печени, например, гепатоцеллюлярную карциному (HCC) (например, HCC с экспрессией с-MET).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-MET представляет собой соединение A17 или соединение, описанное в патентах США №№ 7767675 и 8420645).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-MET представляет собой JNJ-38877605. JNJ-38877605 представляет собой доступный для перорального применения низкомолекулярный ингибитор с-Met. JNJ-38877605 избирательно связывается с с-MET, тем самым ингибируя фосфорилирование с-MET и нарушая пути передачи сигнала с участием с-Met.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-Met представляет собой AMG 208. AMG 208 является избирательным низкомолекулярным ингибитором с-MET. AMG 208 ингибирует лиганд-зависимую и лиганд-независимую активацию с-MET, ингибируя его тирозинкиназную активность, что

может приводить к подавлению роста клеток в опухолях, которые сверхэкспрессируют с-Met.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-Met представляет собой AMG 337. AMG 337 является биодоступным при пероральном применении ингибитором с-Met. AMG 337 избирательно связывается с с-MET, тем самым нарушая пути передачи сигнала с участием с-MET.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-Met представляет собой LY2801653. LY2801653 представляет собой доступный для перорального применения низкомолекулярный ингибитор с-Met. LY2801653 избирательно связывается с с-MET, тем самым ингибируя фосфорилирование с-MET и нарушая пути передачи сигнала с участием с-Met.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-Met представляет собой MSC2156119J. MSC2156119J является биодоступным при пероральном применении ингибитором с-Met. MSC2156119J избирательно связывается с с-MET, что ингибирует фосфорилирование с-MET и нарушает пути передачи сигнала, опосредованные с-Met.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-MET представляет собой капматиниб. Капматиниб также известен как INCB028060. Капматиниб является биодоступным при пероральном применении ингибитором с-MET. Капматиниб избирательно связывается с с-Met, тем самым ингибируя фосфорилирование с-Met и нарушая пути передачи сигнала с участием с-Met.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-MET представляет собой кризотиниб. Кризотиниб также известен как PF-02341066. Кризотиниб является доступным при пероральном применении ингибитором рецепторной тирозинкиназы киназы анапластической лимфомы (ALK) и рецептора фактора роста с-Met/гепатоцитов (HGFR) на основе аминопиридина. Кризотиниб АТФ-конкурентным способом связывается и ингибирует ALK-киназу и слитые белки на основе ALK. Кроме того, кризотиниб ингибирует киназу с-Met и нарушает путь передачи сигнала с участием с-Met. В целом, это средство подавляет рост опухолевых клеток.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-MET представляет собой голватиниб. Голватиниб является биодоступным при пероральном применении двойным ингибитором киназ с-MET и VEGFR-2 с потенциальной противоопухолевой активностью. Голватиниб связывается и ингибирует активность как с-MET, так и VEGFR-2, что может подавлять рост опухолевых клеток и выживание опухолевых клеток, которые сверхэкспрессируют эти рецепторные тирозинкиназы.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-MET представляет собой тивантиниб. Тивантиниб также известен как ARQ 197. Тивантиниб является биодоступным при пероральном применении низкомолекулярным ингибитором с-MET. Тивантиниб связывается с белком с-MET и нарушает пути передачи сигнала с участием с-Met, что может вызывать клеточную гибель в опухолевых клетках, сверхэкспрессирующих белок с-MET или конститутивно экспрессирующих активированный белок с-Met.

Иллюстративные ингибиторы IAP

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором ингибитора белка апоптоза (IAP). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, колоректального рака (CRC), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)), рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)), рака яичника или рака поджелудочной железы), например гематологического злокачественного новообразования (например, множественной миеломы).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор IAP представляет собой (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в патенте США №8552003.

В некоторых вариантах осуществления комбинация, описанная в данном документе, содержит ингибитор IAP, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в патенте США № 8552003, и ингибитор молекулы, представляющей собой контрольную точку иммунного ответа, например, ингибитор CD73 (например, молекулу антитела к CD73).

Иллюстративные ингибиторы EGFR

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), рака поджелудочной железы, рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)) или рака толстой кишки). В определенных вариантах осуществления рак выбран из колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS CRC)), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака легкого (TNBC)).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор EGFR представляет собой (R, E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2013/184757.

В некоторых вариантах осуществления комбинация, описанная в данном документе, содержит ингибитор EGFR, (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2013/184757, и ингибитор молекулы, представляющей собой контрольную точку иммунного ответа, например, ингибитор CD73 (например, молекулу антитела к CD73).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор EGFR, (R, E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2013/184757, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73) для лечения колоректального рака (CRC) (например, MSS-CRC), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор EGFR выбран из одного или нескольких из эрлотиниба, gefитиниба, цетуксимаба, панитумумаба, нецитумумаба, PF-00299804, нимотузумаба или RO5083945.

Иллюстративные ингибиторы mTOR

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором мишени рапамицина (mTOR). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, рака предстательной железы, рака молочной железы, рака головного мозга, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы, рака почки или рака печени, рака легкого (например, мелкоклеточного рака легкого или немелкоклеточного рака легкого), рака респираторного тракта/грудной клетки, саркомы, рака кости, немелкоклеточного рака легкого, эндокринного рака, астроцитомы, рака шейки матки, неврологического рака, рака ЖКТ или меланомы), например, гематологического злокачественного новообразования (например, лейкоза (например, лимфоцитарного лейкоза), например, лимфомы, или, например, множественной миеломы). В определенных вариантах осуществления рак выбран из колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS CRC)), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака легкого (TNBC)).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет собой 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-он (соединение A41).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет собой эверолимус (также известный как AFINITOR®; соединение A36) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/085318.

В некоторых вариантах осуществления комбинация, описанная в данном документе, содержит ингибитор mTOR, эверолимус (соединение A36) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/085318, и ингибитор молекулы, представляющей собой контрольную точку иммунного ответа, например, ингибитор CD73 (например, молекулу антитела к CD73).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR, эверолимус (соединение A36) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/085318, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73) для лечения колоректального рака, рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В некоторых вариантах ингибитор mTOR выбран из одного или нескольких из рапамицина, темсиролимуса (TORISEL®), AZD8055, BGT226, XL765, PF-4691502, GDC0980, SF1126, OSI-027, GSK1059615, KU-0063794, WYE-354, паломид 529 (P529), PF-04691502 или PKI-587, ридафоролимуса (официально известного как деферолимус, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-дигидрокси-19,30-диметокси-15,17,21,23,29,35-гексаметил-2,3,10,14,20-пентаоксо-11,36-диокса-4-азатрицикло[30.3.1.04,9] гексатриаконта-16,24,26,28-тетраен-12-ил]пропил]-2-метоксициклогексилдиметилфосфината, также известного как AP23573 и MK8669 и описанного в публикации согласно РСТ № WO 03/064383); эверолимуса (AFINITOR® или RAD001); рапамицина (AY22989, SIROLIMUS®); симапимода (регистрационный номер CAS: 164301-51-3); (5-{2,4-бис[(3S)-3-метилморфолин-4-ил]пиридо[2,3-d]пиримидин-7-ил}-2-метоксифенил)метанола (AZD8055); 2-амино-8-[транс-4-(2-гидроксиэтокси)циклогексил]-6-(6-метокси-3-пиридинил)-4-метил-пиридо[2,3-d]пиримидин-7(8H)-она (PF04691502, регистрационный номер CAS: 1013101-36-4); N2-[1,4-диоксо-4-[[4-(4-оксо-8-фенил-4H-1-бензопиран-2-ил)морфолиний-4-ил]метокси]бутил]-1-аргинилглицил-1-α-аспартил-1-серина (SEQ ID NO: 176) в форме внутренней соли (SF1126, регистрационный номер CAS: 936487-67-1) или XL765 (SAR245409).

Другие иллюстративные ингибиторы mTOR включают без ограничения темсиролимус; ридафоролимус (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-дигидрокси-19,30-диметокси-15,17,21,23,29,35-гексаметил-2,3,10,14,20-пентаоксо-11,36-диокса-4-азатрицикло

[30,3,1,0^{4,9}]гексатриаконта-16,24,26,28-тетраен-12-ил]пропил]-2-метоксициклогексилдиметилфосфинат, также известный как AP23573 и МК8669; эверолимус (RAD001); рапамицин (AY22989); симапимод; (5-{2,4-бис[(3S)-3-метилморфолин-4-ил]пиридо[2,3-d]пиримидин-7-ил}-2-метоксифенил)метанол (AZD8055); 2-амино-8-[транс-4-(2-гидроксиэтокси)циклогексил]-6-(6-метокси-3-пиридинил)-4-метилпиридо[2,3-d]пиримидин-7(8H)-он (PF04691502) и N²-[1,4-диоксо-4-[[4-(4-оксо-8-фенил-4H-1-бензопиран-2-ил)морфолиний-4-ил]метокси]бутил]-1-аргинилглицил-1- α -аспартил-1-серин- (SEQ ID NO: 176), внутрениую соль (SF1126); и XL765.

Иллюстративные ингибиторы PI3K- γ , - δ

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PI3K), например, фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы гамма и/или дельта (PI3K- γ , δ). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, рака предстательной железы, рака молочной железы, рака головного мозга, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы, рака почки, солидной опухоли, рака печени, немелкоклеточного рака легкого, эндокринного рака, рака яичника, меланомы, рака женской репродуктивной системы, рака пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, мультиформной глиобластомы, рака головы и шеи или рака толстой кишки), например, гематологического злокачественного новообразования (например, лейкоза (например, лимфоцитарного лейкоза, например, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (например, рецидивирующего CLL)), например, лимфомы (например, неходжкинской лимфомы (например, рецидивирующей фолликулярной В-клеточной неходжкинской лимфомы (FL) или рецидивирующей мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (SLL)) или, например, множественной миеломы).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K представляет собой ингибитор дельта- и гамма-изоформ PI3K. Иллюстративные ингибиторы PI3K, которые можно применять в комбинации, описаны, например, в WO 2010/036380, WO 2010/006086, WO 09/114870, WO 05/113556, GSK 2126458, GDC-0980, GDC-0941, Sanofi XL147, XL756, XL147, PF-46915032, BKM 120, CAL-101, CAL 263, SF1126, PX-886 и двойной ингибитор PI3K.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K- γ , δ представляет собой иделалисиб (регистрационный номер CAS: 870281-82-6). Идеалалисиб также известен как ZYDELIG®, GS-1101, CAL-101 или 5-фтор-3-фенил-2-[(1S)-1-(7H-пурин-6-иламино)пропил]-4(3H)-хиназолинон. Идеалалисиб блокирует PI108, дельта-изоформу PI3K. Идеалалисиб раскрыт, например, в Wu et al. Journal of Hematology & Oncology (2013) 6:36.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K- γ , δ представляет собой 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-c]хинолин-2-он (соединение A41).

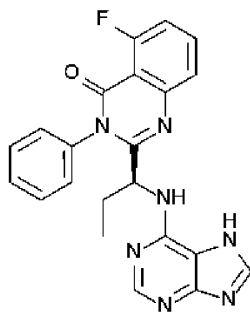
В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K- γ , δ представляет собой бупарлизиб (соединение A6) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/084786.

Другие иллюстративные ингибиторы PI3K- γ , δ , которые можно применять в комбинации, включают, например, пиктилизиб (GDC-0941), LY294002, пиларализиб (XL147), PI-3065, PI-103, VS-5584 (SB2343), CZC24832, дувелисиб (IPI-145, INK1197), TG100-115, CAI10505, GSK1059615, PF-04691502, AS-605240, воксталисиб (SAR245409, XL765), IC-87114, омипалисиб (GSK2126458, GSK458), TG100713, гедатолисиб (PF-05212384, PKI-587), аналог PKI-402, XL147, PIK-90, PIK-293, PIK-294, 3-метиладенин (3-MA), AS-252424, AS-604850 или апитолисиб (GDC-0980, RG7422).

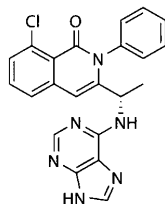
В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K представляет собой соединение A8 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2010/029082.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K представляет собой ингибитор всех форм PI3K, (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2013/124826.

Иллюстративные ингибиторы PI3K- γ , δ включают без ограничения дувелисиб и идеалалисиб. Идеалалисиб (также называемый GS-1101 или CAL-101; Gilead) представляет собой малую молекулу, которая блокирует дельта-изоформу PI3K. Структура идеалалисоба (5-фтор-3-фенил-2-[(1S)-1-(7H-пурин-6-иламино)пропил]-4(3H)-хиназолинона) показана ниже.



Дувелисиб (также называемый IPI-145; Infinity Pharmaceuticals and Abbvie) представляет собой малую молекулу, которая блокирует PI3K- δ,γ . Структура дувелисиба (8-хлор-2-фенил-3-[(1S)-1-(9H-пурин-6-иламино)этил]-1(2H)-изохинолинона) показана ниже.



В одном варианте осуществления ингибитор представляет собой двойной ингибитор фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и mTOR, выбранный из 2-амино-8-[транс-4-(2-гидроксиэтокси)циклогексил]-6-(6-метокси-3-пиридинил)-4-метилпиридо[2,3-d]пиримидин-7(8H)-она (PF-04691502); N-[4-[[4-(диметиламино)-1-пиперидинил]карбонил]фенил]-N'-[4-(4,6-ди-4-морфолинил-1,3,5-триазин-2-ил)фенил]мочевинны (PF-05212384, PKI-587); апитолисиба (GDC-0980, RG7422); 2,4-дифтор-N-{2-(метилокси)-5-[4-(4-пиридазинил)-6-хинолинил]-3-пиридинил}бензолсульфонамида (GSK2126458); 8-(6-метоксипиримидин-3-ил)-3-метил-1-(4-(пиперазин-1-ил)-3-(трифтометил)фенил)-1H-имидазо[4,5-c]хинолин-2(3H)-она малеиновой кислоты (NVP-BGT226); 3-[4-(4-морфолинилпиридо[3',2':4,5]фуоро[3,2-d]пиримидин-2-ил]фенола (PI-103); 5-(9-изопропил-8-метил-2-морфолино-9H-пурин-6-ил)пиримидин-2-амин (VS-5584, SB2343) или N-[2-[(3,5-диметоксифенил)амино]хиноксалин-3-ил]-4-[(4-метил-3-метоксифенил)карбонил]амино фенилсульфонамида (XL765).

Иллюстративные ингибиторы JAK

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, вводят в комбинации с ингибитором Янус-киназы (JAK). В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе, например, солидной опухоли (например, рака толстой кишки, рака предстательной железы, рака легкого, рака молочной железы или рака поджелудочной железы), например, гематологического злокачественного новообразования (например, лейкоза (например, миелоидного лейкоза или лимфоцитарного лейкоза), например, лимфомы (например, неходжкинской лимфомы), или множественной миеломы.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK представляет собой 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дигидрохлоридную соль или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/070514.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK представляет собой руксолитиниба фосфат (также известный как JAKAFI; соединение A18) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/070514.

Иллюстративные средства клеточной терапии

Молекулы антитела к CD73 также можно объединять со средством клеточной терапии, например, терапией на основе химерного антигенного рецептора (CAR), терапией на основе Т-клеток, терапией на основе естественных клеток-киллеров (NK) или терапией на основе дендритных клеток.

Комбинации со средствами терапии на основе CAR

Молекулы антитела к CD73, описанные в данном документе, можно вводить в комбинации со вторым терапевтическим средством, например, клеткой, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR). CAR может содержать i) внеклеточный антигенсвязывающий домен, ii) трансмембранный домен и iii) внутриклеточный сигнальный домен (который может содержать один или оба из первичного сигнального домена и костимулирующего домена). CAR может дополнительно содержать лидерную последовательность и/или шарнирную последовательность. В конкретных вариантах осуществления конструкция на основе CAR содержит домен scFv, где scFv может предшествовать необязательная лидерная последовательность, а за ним могут следовать необязательная шарнирная последовательность, трансмембранная область и внутриклеточный сигнальный домен, например, где домены являются смежными и находятся в одной и той же рамке считывания с образованием единого слитого белка.

В некоторых вариантах осуществления молекула CAR предусматривает молекулу CAR для CD19,

описанную в данном документе, например, молекулу CAR для CD19, описанную в US 2015/0283178, например, CTL019. В вариантах осуществления CAR для CD19 содержит аминокислотную или имеет нуклеотидную последовательность, представленную в US 2015/0283178, полностью включенном в настоящий документ посредством ссылки, или последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности с ней).

В одном варианте осуществления Т-клетка с CAR, которая связывается с CD19, имеет обозначение согласно USAN TISAGENLECLEUCET-Т. CTL019 получают посредством генной модификации Т-клеток, опосредованной стабильной вставкой путем трансдукции с помощью самоинактивирующегося лентивирусного (LV) вектора, дефектного по репликации, содержащего трансген CTL019 под контролем промотора EF-1 альфа. CTL019 может представлять собой смесь положительных и отрицательных по трансгену Т-клеток, которые доставляют субъекту из расчета процентного количества положительных по трансгену Т-клеток.

В одном варианте осуществления CAR для CD19 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 12 в публикации согласно PCT WO2012/079000. В варианте осуществления аминокислотная последовательность представляет собой:

MALPVTALLLPLALLLHAARPdiquqtsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkliihtsr
lhsgvpsrfsfgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsgggsgggsevklqesgpglvapsqslsvtct
vsgvslpdygvswirpprkglewlgviwgsettyynsalksrliikdnksqvfllkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdy
wgqgtsvtvssttpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkklyifkqp
fmrpvqttqeedgcsrpfееееggcelrvkfsrsadapaykqggnqlynelnlgreeydvldkrrgrdpemggkprknpqegly
nelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr (SEQ ID NO: 132)

или

последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью), с последовательностью сигнального пептида или без нее, которая указана заглавными буквами.

В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность представляет собой:

diquqtsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkliihtsr lhsgvpsrfsfgsgsgtdysltisnleqediatyf
cqqgntlpytfgggtkleitggggsgggsgggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirpprkglewlgviwg
settyynsalksrliikdnksqvfllkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvssttpprptpaptiasqplsrp
eacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkklyifkqpfmrpvqttqeedgcsrpfееееggcelrvkfs
rsadapaykqggnqlynelnlgreeydvldkrrgrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdgly
qglstatkdydalhmqalppr (SEQ ID NO: 133),

или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности с ней).

Антигенсвязывающий домен химерного антигенного рецептора (CAR) Антигенсвязывающий домен может представлять собой любой домен, который связывается с антигеном, в том числе без ограничения моноклональное антитело, поликлональное антитело, рекомбинантное антитело, антитело человека, гуманизированное антитело и их функциональный фрагмент, в том числе без ограничения однодоменное антитело, такое как переменный домен тяжелой цепи (VH), переменный домен легкой цепи (VL) и переменный домен (VNH) нанотела, полученного от верблюдовых, а также альтернативную каркасную структуру, которая, как известно из уровня техники, функционирует в качестве антигенсвязывающего домена, такую как рекомбинантный фибронектиновый домен, Т-клеточный рецептор (TCR) или его фрагмент, например, одноцепочечный TCR и т. п. В некоторых случаях целесообразно, чтобы антигенсвязывающий домен был получен из того же вида, в организме которого в конечном итоге будут применяться CAR. Например, для применения у людей может быть целесообразно, чтобы антигенсвязывающий домен CAR содержал человеческие или гуманизированные остатки в антигенсвязывающем домене антитела или фрагмента антитела.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен CAR представляет собой scFv-фрагмент антитела, которое является гуманизированным по сравнению с мышьиной последовательностью scFv, из которой он получен.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывается с опухолевым антигеном, описанным в данном документе. В вариантах осуществления опухолевый антиген выбран из CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1 (также называемого CD2 подгруппы 1, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); лектиноподобной молекулы 1 С-типа (CLL-1 или CLECL1); CD33; варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII); ганглиозида G2 (GD2); ганглиозида GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); антигена созревания В-клеток (BCMA), являющегося представителем семейства рецепторов TNF; Тn-антигена ((Тn-Ag) или (GalNAc α -Ser/Thr)); простатического специфического мембранного антигена (PSMA); орфанного рецептора 1, подобного тирозинкиназному

рецептору (ROR1); Fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3); опухолеассоциированного гликопротеина 72 (TAG72); CD38; CD44v6; раково-эмбрионального антигена (CEA); молекулы адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); VTN3 (CD276); KIT (CD117); альфа-2-субъединицы рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); мезотелина; альфа-субъединицы рецептора интерлейкина 11 (IL-11Ra); антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA); сериновой протеазы 21 (тестизина или PRSS21); рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); антигена системы Льюис (Y); CD24; рецептора фактора роста тромбоцитов бета-типа (PDGFR-бета); стадиеспецифического эмбрионального антигена 4 (SSEA-4); CD20; рецептора фолиевой кислоты альфа; рецепторной тирозинпротеинкиназы ERBB2 (Her2/neu); муцина 1, ассоциированного с клеточной поверхностью (MUC1); рецептора эпидермального фактора роста (EGFR); молекулы адгезии нервных клеток (NCAM); простаза; простатической кислотой фосфатазы (PAP); мутантного фактора элонгации 2 (ELF2M); эфрина B2; белка активации фибробластов альфа (FAP); рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептора IGF-1), карбоангидразы IX (CAIX); субъединицы бета-типа 9 протеасомы (просомы, мультикалитической протеазы) (LMP2); гликопротеина 100 (gp100); онкогена слитого белка, состоящего из кластерного региона точечных разрывов (BCR) и гомолога 1 онкогена вируса лейкоза мышей Абельсона (Abl) (bcg-abl); тирозиназы; рецептора 2 эфрина А-типа (EphA2); фукозил-GM1; молекулы адгезии, представляющей собой сиалилированный антиген системы Льюис (sLe); ганглиозида GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); трансглутаминазы 5 (TGS5); высокомолекулярного антигена, ассоциированного с меланомой (HMWMAA); ганглиозида о-ацетил-GD2 (OAcGD2); рецептора фолиевой кислоты бета; опухолевого эндотелиального маркера 1 (TEM1/CD248); антигена, родственного опухолевому эндотелиальному маркеру 7 (TEM7R); клаудина 6 (CLDN6); рецептора тиреотропного гормона (TSHR); представителя D группы 5 класса C рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR5D); белка, кодируемого открытой рамкой считывания 61 X-хромосомы (CXORF61); CD97; CD179a; киназы анапластической лимфомы (ALK); полисиаловой кислоты; плацентоспецифического белка 1 (PLAC1); гексасахаридной части гликоцерамида globoH (GloboH); дифференцировочного антигена молочной железы (NY-BR-1); уроплакина 2 (UPK2); клеточного рецептора 1 вируса гепатита А (HAVCR1); бета-3-адренорецептора (ADRB3); паннексина 3 (PANX3); рецептора 20, сопряженного с G-белком (GPR20); антигена локуса K9 комплекса лимфоцитарных антигенов 6 (LY6K); обонятельного рецептора 51E2 (OR51E2); белка, кодируемого альтернативной рамкой считывания гена TCR-гамма (TARP); белка опухоли Вильмса (WT1); раково-тестикулярного антигена 1 (NY-ESO-1); раково-тестикулярного антигена 2 (LAGE-1a); антигена 1, ассоциированного с меланомой (MAGE-A1); белка, кодируемого транслокационным вариантом 6 гена ETS, локализованным в р-плече 12 хромосомы (ETV6-AML); белка сперматозоидов 17 (SPA17); представителя 1A семейства X-антигенов (XAGE1); ангиопоэтин-связывающего рецептора клеточной поверхности 2 (TIE-2); раково-тестикулярного антигена меланомы 1 (MAD-CT-1); раково-тестикулярного антигена меланомы 2 (MAD-CT-2); Fos-родственного антигена 1; опухолевого белка p53 (p53); мутантного p53; простеина; сурвивина; теломеразы; опухолевого антигена 1 карциномы предстательной железы (PSTA-1 или галектина 8), антигена меланомы 1, распознаваемого Т-клетками (MelanA или MART1); мутантного антигена саркомы крыс (Ras); обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT); антигенов саркомы с точечными разрывами при транслокации; меланомного ингибитора апоптоза (ML-IAP); ERG (продукта слитого гена трансмембранной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2) и ETS); N-ацетилглюкозаминилтрансферазы V (NA17); белка с парным Бох-доменом Pax-3 (PAX3); андрогенового рецептора; циклина B1; нейробластомного гомолога онкогена вируса миелоцитоматоза птиц v-мус (MYCN); представителя C семейства гомологов Ras (RhoC); белка 2, родственного тирозиназе (TRP-2); цитохрома P450 1B1 (CYP1B1); антигена, подобного CCCTC-связывающему фактору (белку с "цинковыми пальцами") (BORIS или Brother of the Regulator of Imprinted Sites), антигена плоскоклеточной карциномы 3, распознаваемого Т-клетками (SART3); белка с парным Бох-доменом Pax-5 (PAX5); проакрозин-связывающего белка sp32 (OY-TES1); лимфоцитоспецифической протеинтирозинкиназы (LCK); якорного белка 4 киназы А (AKAP-4); антигена 2 синовиальной саркомы с точечным разрывом в X-хромосоме (SSX2); рецептора конечных продуктов гликирования (RAGE-1); почечного убиквитарного белка 1 (RU1); почечного убиквитарного белка 2 (RU2); легумаина; E6 вируса папилломы человека (E6 HPV); E7 вируса папилломы человека (E7 HPV); кишечной карбоксилэстеразы; мутантного белка теплового шока 70-2 (mut-hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; иммуноглобулиноподобного рецептора 1, ассоциированного с лейкоцитами (LALR1); рецептора Fc-фрагмента IgA (FCAR или CD89); представителя 2 подсемейства А лейкоцитарных иммуноглобулиноподобных рецепторов (LILRA2); представителя f семейства белков, подобных молекулам CD300 (CD300LF); представителя А семейства 12 лектиновых доменов С-типа (CLEC12A); антигена 2 стромальных клеток костного мозга (BST2); антигена 2, подобного муциноподобному рецептору гормона, содержащего EGF-подобный модуль (EMR2); лимфоцитарного антигена 75 (LY75); глипикана 3 (GPC3); антигена 5, подобного Fc-рецептору (FCRL5); и полипептида 1, подобного иммуноглобулину лямбда (IGLL1).

В одном варианте осуществления молекула CAR предусматривает молекулу CAR для ВСМА, например, CAR для ВСМА, описанную в US 2016/0046724 или WO 2016/014565, включенных в настоящий документ посредством ссылки. В вариантах осуществления CAR для ВСМА содержит аминокислотную

последовательность или имеет нуклеотидную последовательность молекулы CAR или антигенсвязывающий домен в соответствии с US 2016/0046724 или табл. 1 или 16, SEQ ID NO: 271 или SEQ ID NO: 273 из WO 2016/014565, включенной в настоящий документ посредством ссылки, или последовательность, по сути идентичную любой из вышеупомянутых последовательностей (например, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90% или 95% идентичностью последовательности с любой из вышеупомянутых последовательностей CAR для ВСМА). Аминокислотные последовательности молекул CAR для ВСМА и антигенсвязывающих доменов (например, содержащих одну, две, три CDR VH и одну, две, три CDR VL по Kabat или Chothia) и нуклеотидные последовательности, кодирующие их, указаны в WO 2016/014565.

Трансмембранный домен химерного антигенного рецептора (CAR)

Что касается трансмембранного домена, в различных вариантах осуществления CAR можно разработать так, чтобы он содержал трансмембранный домен, присоединенный к внеклеточному домену CAR.

Трансмембранный домен можно получить либо из природного, либо из рекомбинантного источника. Если источник является природным, домен можно получить из любого мембраносвязанного или трансмембранного белка. В одном аспекте трансмембранный домен способен передавать сигнал внутриклеточному(ым) домену(ам) всякий раз, когда CAR связывается с мишенью. Трансмембранный домен может включать по меньшей мере трансмембранную(ые) область(и), например, альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD27, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен может включать по меньшей мере трансмембранную(трансмембранные) область(области), например, KTRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R-бета, IL2R-гамма, IL7R α , ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D или NKG2C.

В некоторых случаях трансмембранный домен может быть присоединен к внеклеточной области CAR, например, антигенсвязывающему домену CAR, с помощью шарнирной области, например, шарнирной области из белка человека. Например, в одном варианте осуществления шарнирная область может представлять собой шарнирную область Ig (иммуноглобулина) человека (например, шарнирную область IgG4, шарнирную область IgD), линкер GS (например, линкер GS, описанный в данном документе), шарнирную область KIR2DS2 или шарнирную область CD8a.

Внутриклеточный сигнальный домен химерного антигенного рецептора (CAR)

Цитоплазматический домен или область CAR включает внутриклеточный сигнальный домен. Внутриклеточный сигнальный домен обычно отвечает за активацию по меньшей мере одной из нормальных эффекторных функций иммунной клетки, в которую был введен CAR.

Примеры внутриклеточных сигнальных доменов для применения в CAR включают цитоплазматические последовательности Т-клеточного рецептора (TCR) и корецепторов, которые действуют совместно, иницируя передачу сигнала после привлечения антигенного рецептора, и любое производное или вариант этих последовательностей и любую рекомбинантную последовательность, которая обладает такими же функциональными возможностями.

Первичный сигнальный домен регулирует первичную активацию комплекса TCR либо стимулирующим образом, либо ингибирующим образом. Первичные внутриклеточные сигнальные домены, которые действуют стимулирующим образом, могут содержать сигнальные мотивы, известные как иммунорецепторные тирозиновые активирующие мотивы или ITAM.

Примеры первичных внутриклеточных сигнальных доменов, содержащих ITAM, включают домены CD3-дзета, общей гамма-цепи FcR (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12. В одном варианте осуществления CAR содержит внутриклеточный сигнальный домен, например, первичный сигнальный домен CD3-дзета.

Внутриклеточный сигнальный домен CAR может содержать сигнальный домен CD3-дзета в отдельности или в комбинации с любым(любыми) другим(другими) необходимым(необходимыми) внутриклеточным(внутриклеточными) сигнальным(сигнальными) доменом(доменами), применимым(применимыми) в качестве составной части CAR по настоящему изобретению. Например, внутриклеточный сигнальный домен CAR может содержать часть дзета-цепи CD3 и костимулирующий сигнальный домен. Костимулирующий сигнальный домен относится к части CAR, содержащей внутриклеточный домен костимулирующей молекулы. Костимулирующая молекула представляет собой молекулу клеточной поверхности, отличную от антигенного рецептора или его лигандов, которая необходима для эффективного ответа лимфоцитов на антиген. Примеры таких молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген 1, ассоциированный с функцией лимфоцитов (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 и лиганд, который связывается с CD83, и т. п. Например, было продемонст-

рировано, что костимуляция с помощью CD27 усиливает размножение, эффекторную функцию и выживание CART-клеток человека *in vitro* и увеличивает персистенцию и противоопухолевую активность Т-клеток человека *in vivo* (Song et al. Blood. 2012; 119(3):696-706). Дополнительные примеры таких костимулирующих молекул включают CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8-альфа, CD8-бета, IL2R-бета, IL2R-гамма, IL7R-альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), NKG2D, CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp и CD19a.

Активация и размножение иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток)

Иммунные эффекторные клетки, такие как Т-клетки, можно активировать и размножить, как правило, с применением способов, описанных, например, в патентах США № 6352694; 6534055; 6905680; 6692964; 5858358; 6887466; 6905681; 7144575; 7067318; 7172869; 7232566; 7175843; 5883223; 6905874; 6797514; 6867041 и публикации заявки на патент США № 2006/0121005, включенных в данный документ посредством ссылки

Примеры иммунных эффекторных клеток включают Т-клетки, например, альфа/бета-Т-клетки и гамма/дельта-Т-клетки, В-клетки, естественные клетки-киллеры (NK), естественные Т-клетки-киллеры (NKT), тучные клетки и фагоциты миелоидного происхождения.

Способы получения CAR-экспрессирующих клеток описаны, например, в US 2016/0185861, включенном в настоящий документ посредством ссылки.

Иллюстративные противораковые вакцины

Молекулы антитела к CD73 можно объединять с иммуногенным средством, таким как раковые клетки, очищенные опухолевые антигены (в том числе рекомбинантные белки, пептиды и молекулы углеводов), клетки и клетки, трансфицированные генами, кодирующими иммуностимулирующие цитокины (He et al. (2004) J. Immunol. 173:4919-28). Неограничивающие примеры противоопухолевых вакцин, которые можно применять, включают пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигены MAGE, Trp-2, MART1 и/или тирозиназу, опухолевые клетки, трансфицированные с обеспечением экспрессии цитокина GM-CSF, вакцины на основе ДНК, вакцины на основе РНК и вакцины на основе вирусной трансдукции. Противораковая вакцина может быть профилактической или терапевтической.

Блокаду CD73 можно применять в сочетании с коллекцией рекомбинантных белков и/или пептидов, экспрессируемых в опухоли, для выработки иммунного ответа на эти белки.

Другие противоопухолевые вакцины могут включать белки из вирусов, вовлеченных в виды рака человека, такие как вирусы папилломы человека (HPV), вирусы гепатита (HBV и HCV), вирус герпеса саркомы Капоши (KHSV) и вирус Эпштейна-Барр (EBV). Другой формой опухолеспецифического антигена, который можно применять в сочетании с блокадой CD73, являются очищенные белки теплового шока (HSP), выделенные из самой опухолевой ткани. Такие белки теплового шока содержат фрагменты белков из опухолевых клеток, и эти HSP очень эффективны при доставке в антигенпрезентирующие клетки для вызывания опухолевого иммунитета (Suot, R & Srivastava, P (1995) Science 269:1585-1588; Tamura, Y. et al. (1997) Science 278:117-120).

Дендритные клетки (DC) являются мощными антигенпрезентирующими клетками, которые можно применять для инициации антигенспецифических ответов. DC могут быть получены *ex vivo* и загружены различными белковыми и пептидными антигенами, а также экстрактами опухолевых клеток (Nestle, F. et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332). DC также могут быть трансдуцированы генетическим путем, чтобы также экспрессировать указанные опухолевые антигены. DC также были слиты непосредственно с опухолевыми клетками в целях иммунизации (Kugler, A. et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336). Как способ вакцинации, иммунизацию с помощью DC можно эффективно объединять с блокадой CD73 для активации более сильных противоопухолевых ответов.

Иллюстративные онколитические вирусы

Молекулы антитела к CD73 можно вводить в комбинации с онколитическими вирусами. В вариантах осуществления онколитические вирусы способны избирательно реплицироваться в раковой клетке и вызывать ее гибель или замедление ее роста. В некоторых случаях онколитические вирусы не оказывают эффекта или оказывают минимальный эффект в отношении клеток, отличных от раковых. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения рака, например, рака, описанного в данном документе. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак мозга, например, глиобластому (GBM). Онколитический вирус включает без ограничения онколитический аденовирус, онколитические вирусы простого герпеса, онколитические ретровирусы, онколитические парвовирусы, онколитический вирус осповакцины, онколитический вирус Синдбис, онколитический вирус гриппа или онколитический РНК-содержащий вирус (например, онколитический реовирус, онколитический вирус болезни Ньюкасла (NDV), онколитический вирус кори или онколитический вирус везикулярного стоматита (VSV)).

Иллюстративные онколитические вирусы включают без ограничения следующие:

онколитический аденовирус группы В (ColoAd1) (PsiOxus Therapeutics Ltd.) (см., например, клиническое исследование с идентификационным номером NCT02053220);

ONCOS-102 (ранее называемый CGTG-102), который представляет собой аденовирус, содержащий гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) (Oncos Therapeutics) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01598129);

VCN-01, который представляет собой генетически модифицированный онколитический аденовирус человека, кодирующий гиалуронидазу PH20 человека (VCN Biosciences, S.L.) (см., например, клинические испытания с идентификационными номерами NCT02045602 и NCT02045589);

условно-репликативный аденовирус ICOVIR-5, который представляет собой вирус, полученный из аденовируса дикого типа человека серотипа 5 (Had5), который был модифицирован для избирательной репликации в раковых клетках с нарушенной регуляцией пути ретинобластома/E2F (Institut Catalá d'Oncoologia) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01864759);

Celyvir, который содержит аутологические мезенхимальные стволовые клетки, полученные из костного мозга (MSC), инфицированные ICOVIR5, онколитический аденовирус (Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Мадрид, Испания/Ramon Alemany) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01844661);

CG0070, который представляет собой условно-репликативный онколитический аденовирус серотипа 5 (Ad5), в котором промотор E2F-1 человека регулирует экспрессию важного гена вируса E1a, за счет чего обеспечивается ограничение вирусной репликации и цитотоксичности в дефектных в отношении Rb-пути опухолевых клетках (Cold Genesys, Inc.) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT02143804); или

DNX-2401 (ранее называемый Delta-24-RGD), который представляет собой аденовирус, который был сконструирован для избирательной репликации в дефектных в отношении пути ретинобластомы (Rb) клетках и для более эффективного инфицирования клеток, которые экспрессируют определенные связывающиеся с RGD интегрины (Clinica Universidad de Navarra, Universidad de Navarra/DNAtrix, Inc.) (см., например, клиническое испытание с идентификационным номером NCT01956734).

В некоторых вариантах осуществления онколитический вирус, описанный в данном документе, вводят с помощью инъекции, например подкожной, внутриартериальной, внутривенной, внутримышечной, интратекальной или интраперитонеальной инъекций. В вариантах осуществления онколитический вирус, описанный в данном документе, вводят внутрь опухоли, трансдермально, трансмукозально, перорально, интраназально или посредством ингаляционного введения.

Дополнительные иллюстративные виды терапии рака

Иллюстративные комбинации молекул антитела к CD73 (по отдельности или в комбинации с другими стимулирующими средствами) и стандартная помощь при раке включают по меньшей мере следующее. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, например молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, применяют в комбинации со стандартным химиотерапевтическим средством для лечения рака, включающим без ограничения анастрозол (Arimidex®), бикалутамид (Casodex®), блеомицина сульфат (Bleoxane®), бусульфан (Myleran®), бусульфан для инъекций (Busulfex®), капецитабин (Xeloda®), N4-пентоксикарбонил-5-дезоксидеозокси-5-фторцитидин, карбоплатин (Pargaplatin®), кармустин (BiCNU®), хлорамбуцил (Leukeran®), цисплатин (Platinol®), кладрибин (Leustatin®), циклофосфамид (Cytosan® или Neosar®), цитарабин, цитозина арабинозид (Cytosar-U®), липосомальный цитарабин для инъекций (DepoCyt®), дакарбазин (DTIC-Dome®), дактиномицин (актиномицин D, Cosmegen), даунорубицина гидрохлорид (Cerubidine®), липосомальный даунорубицина цитрат для инъекций (DaunoXome®), дексаметазон, доцетаксел (Taxotere®), доксорубицина гидрохлорид (Adriamycin®, Rubex®), этопозид (Vepesid®), флударабина фосфат (Fludara®), 5-фторурацил (Adrucil®, Efudex®), флутамид (Eulexin®), тезацитибин, гемцитабин (дифтордезоксидеозидин), гидроксимочевину (Hydrea®), идарубицин (Idamycin®), ифосфамид (IFEX®), иринотекан (Camptosar®), L-аспарагиназу (ELSPAR®), лейковорин кальция, мелфалан (Alkeran®), 6-меркаптопурин (Purinethol®), метотрексат (Folex®), митоксантрон (Novantrone®), милотарг, паклитаксел (Taxol®), феникс (иттрий-90/MX-DTPA), пентостатин, имплантат с полифепросаном 20 и кармустином (Gliadel®), тамоксифена цитрат (Nolvadex®), тенипозид (Vumon®), 6-тиогуанин, тиотепу, тирапазамин (Tirazone®), топотекана гидрохлорид для инъекций (Nuscampin®), винбластин (Velban®), винкристин (Oncovin®), винорелбин (Navelbine®), ибрутиниб, иделализиб и брентуксимаба ведотин.

Иллюстративные алкилирующие средства включают без ограничения азотистые иприты, производные этиленмина, алкилсульфонаты, производные нитрозомочевины и триазены: урациловый иприт (Aminouracil Mustard®, Chlorethaminacil®, Demethylodopan®, Desmethylodopan®, Haemanthamine®, Nordopan®, Uracil nitrogen mustard®, Uracillost®, Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®), хлорметин (Mustargen®), циклофосфамид (Cytosan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune™), ифосфамид (Mitoxana®), мелфалан (Alkeran®), хлорамбуцил (Leukeran®), пипоброман (Amedel®, Ver-

cyte®), триэтиленмеламин (Hemel®, Hexalen®, Hexastat®), триэтилтиофосфорамин, темозоломид (Temodar®), тиотепу (Thioplex®), бусульфан (Busilvex®, Myleran®), кармустин (BiCNU®), ломустин (CeeNU®), стрептозоцин (Zanosar®) и дакарбазин (DTIC-Dome®). Дополнительные иллюстративные алкилирующие средства включают без ограничения оксалиплатин (Eloxatin®); темозоломид (Temodar® и Temodal®); дактиномицин (также известный как актиномицин-D, Cosmegen®); мелфалан (также известный как L-ПАМ, L-сарколизин и фенилаланин-иприт, Alkeran®); алтретамин (также известный как гексаметилмеламин (HMM), Hexalen®); кармустин (BiCNU®); бендамустин (Treanda®); бусульфан (Busulfex® и Myleran®); карбоплатин (Paraplatin®); ломустин (также известный как CCNU, CeeNU®); цисплатин (также известный как CDDP, Platinol® и Platinol®-AQ); хлорамбуцил (Leukeran®); циклофосфамид (Cytoxan® и Neosar®); дакарбазин (также известный как DTIC, DIC и имидазолкарбоксамид, DTIC-Dome®); алтретамин (также известный как гексаметилмеламин (HMM), Hexalen®); ифосфамид (Ifex®); преднумустин; прокарбазин (Matulane®); мехлорэтамин (также известный как азотистый иприт, мустин и мехлорэтамин гидрохлорид, Mustargen®); стрептозоцин (Zanosar®); тиотепу (также известный как тиофосфоамид, TESPА и TSPA, Thioplex®); циклофосфамид (Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune®) и бендамустин HCl (Treanda®).

Иллюстративные антрациклины включают, например, доксорубин (Adriamycin® и Rubex®); блеомицин (Ienoxane®); даунорубин (даунорубин гидрохлорид, дауномицин и рубидомицин гидрохлорид, Cerubidine®); липосомальный даунорубин (липосомальный даунорубин цитрат, DaunoXome®); митоксантрон (DHAD, Novantrone®); эпирубин (Ellence™); идарубин (Idamycin®, Idamycin PFS®); митомицин С (Mutamycin®); гелданамицин; гербимицин; равидомицин и дезацетилравидомицин. Иллюстративные алкалоиды барвинка, которые можно применять в комбинации с молекулами антитела к CD73, включают без ограничения винорелбин тартрат (Navelbine®), винкрестин (Oncovin®) и виндезин (Eldisine®); винбластин (также известный как винбластин сульфат, винкалейкобластин и VLB, Alkaban-AQ® и Velban®) и винорелбин (Navelbine®).

Иллюстративные ингибиторы протеосом, которые можно применять в комбинации с молекулами антитела к CD73, включают без ограничения бортезомиб (Velcade®); карфилзомиб (PX-171-007, (S)-4-метил-N-((S)-1-(((S)-4-метил-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопентан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетамидо)-4-фенилбутанамидо)-пентанамид); маризомиб (NPI-0052); иксазомиба цитрат (MLN-9708); деланзомиб (CEP-18770); и O-метил-N-[(2-метил-5-тиазолил)карбонил]-1-серил-O-метил-N-[(1S)-2-[(2R)-2-метил-2-оксиранил]-2-оксо-1-(фенилметил)этил]-1-серинамид (ONX-0912).

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, например молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, применяют в комбинации с ингибитором тирозинкиназы (например, ингибитором рецепторной тирозинкиназы (RTK)). Иллюстративные ингибиторы тирозинкиназы включают без ограничения ингибитор пути эпидермального фактора роста (EGF) (например, ингибитор рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)), ингибитор пути фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR) (например, ингибитор VEGFR-1, ингибитор VEGFR-2, ингибитор VEGFR-3)), ингибитор пути фактора роста тромбоцитов (PDGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста тромбоцитов (PDGFR) (например, ингибитор PDGFR-β)), ингибитор RAF-1, ингибитор KIT и ингибитор RET. В некоторых вариантах осуществления противораковое средство, применяемое в комбинации с ингибитором белка hedgehog, выбрано из группы, состоящей из акситиниба (AG013736), бозутиниба (SKI-606), цедираниба (RECENTIN™, AZD2171), дазатиниба (SPRYCEL®, BMS-354825), эрлотиниба (TARCEVA®), гефитиниба (TRESSA®), иматиниба (Gleevec®, CGP57148B, STI-571), лопатиниба (TYKERB®, TYVERB®), лестаургиниба (CEP-701), нератиниба (NKI-272), нилотиниба (TASIGNA®), семаксаниба (семаксаниб, SU5416), сунитиниба (SUTENT®, SU11248), тоцераниба (PALLADIA®), вандетаниба (ZACTIMA®, ZD6474), ваталаниба (PTK787, PTK/ZK), трастузумаба (HERCEPTIN®), бевацизумаба (AVASTIN®), ритуксимаба (RITUXAN®), цетуксимаба (ERBITUX®), панитумумаба (VECTIBIX®), ранибизумаба (Lucentis®), нилотиниба (TASIGNA®), сорафениба (NEXAVAR®), алемтузумаба (CAMPATH®), гемтузумаба озогомицина (MYLOTARG®), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, BIBW 2992 (TOVOK™), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, ABT-869, MP470, BIBF 1120 (VARGATEF®), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS-690154, CEP-11981, тивозаниба (AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647, XL228, AEE788, AG-490, AST-6, BMS-599626, CUDC-101, PD153035, пелитиниба (ЕКВ-569), вандетаниба (зактима), WZ3146, WZ4002, WZ8040, ABT-869 (линифаниб), AEE788, AP24534 (понатиниб), AV-951 (тивозаниб), акситиниба, BAY 73-4506 (регорафениб), бриваниба аланината (BMS-582664), бриваниба (BMS-540215), цедираниба (AZD2171), CP 673451, CYC116, E7080, Ki8751, маситиниба (AB1010), MGCD-265, мотесаниба дифосфата (AMG-706), MP-470, OSI-930, пазопаниба гидрохлорида, PD173074, сорафениба тозилата (Bay 43-9006), SU 5402, TSU-68 (SU6668), ваталаниба, XL880 (GSK1363089, EXEL-2880). Отобранные ингибиторы тирозинкиназы выбраны из сунитиниба, эрлотини-

ба, гефитиниба или сорафениба.

Лучевую терапию можно осуществлять с помощью одного из нескольких способов или комбинации способов, в том числе без ограничения дистанционной лучевой терапии, внутренней лучевой терапии, способа на основе имплантации источника излучения, стереотаксической радиохирургии, системной лучевой терапии, радиотерапии и постоянной или временной интерстициальной брахитерапии. Термин "брахитерапия" относится к лучевой терапии, осуществляемой пространственно ограниченным радиоактивным материалом, введенным в организм в месте опухоли или рядом с ней или в другом месте пролиферативного заболевания ткани. Термин предназначен без ограничения для включения воздействия с помощью радиоактивных изотопов (например, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32 и радиоактивных изотопов Lu). Подходящие источники излучения для применения в качестве средства для кондиционирования клеток по настоящему изобретению включают как твердые вещества, так и жидкости. В качестве неограничивающего примера, источник излучения может представлять собой радионуклид, такой как I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 в качестве твердого источника, I-125 в качестве твердого источника или другие радионуклиды, которые испускают фотоны, бета-частицы, гамма-излучение или другие терапевтические лучи. Радиоактивный материал также может представлять собой жидкость, полученную из любого раствора радионуклида(ов), например раствора I-125 или I-131, или радиоактивную жидкость можно получить с использованием суспензии подходящей жидкости, содержащей мелкие частицы твердых радионуклидов, таких как Au-198, Y-90.

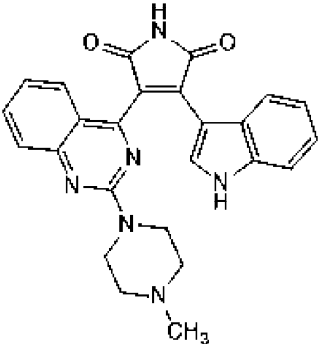
Блокаду CD73 также можно эффективно сочетать с химиотерапевтическими режимами. В этих случаях возможно снизить дозу вводимого химиотерапевтического реагента.

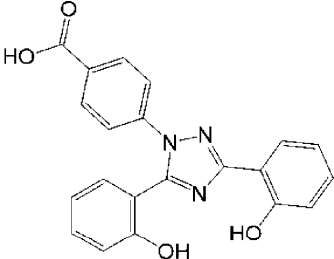
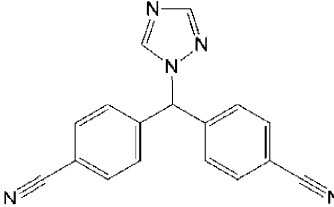
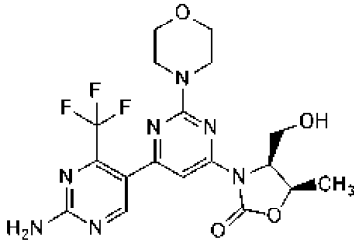
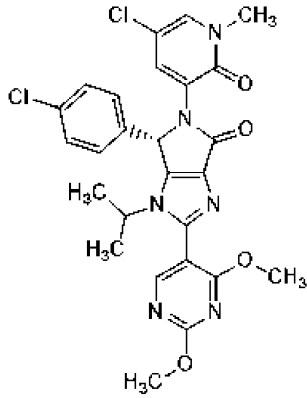
Иллюстративные цитотоксические средства, которые можно вводить в комбинации с молекулой антитела к CD73, включают antimикротубулиновые средства, ингибиторы топоизомераз, антиметаболиты, ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антрациклины, алкалоиды барвинка, интеркалирующие средства, средства, способные нарушать путь передачи сигнала, средства, которые стимулируют апоптоз, ингибиторы протеасом и излучение (например, местное облучение или общее облучение тела).

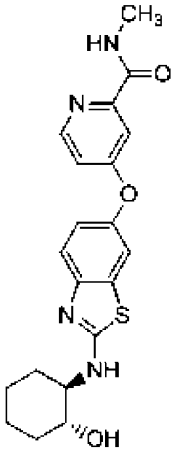
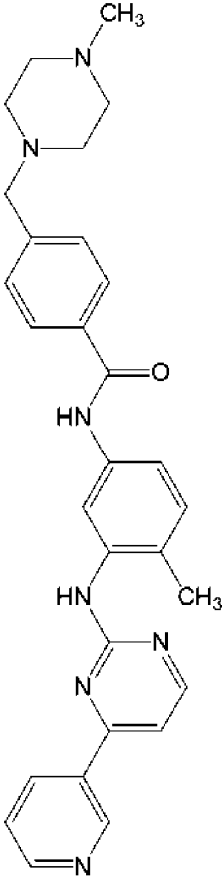
В определенных вариантах осуществления любая из комбинаций, раскрытых в данном документе, в качестве альтернативы или в комбинации, дополнительно включает одно или несколько из средств, описанных в табл. 18.

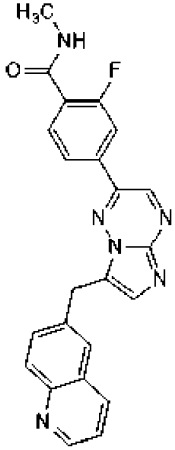
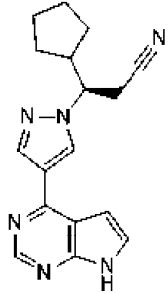
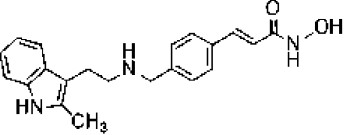
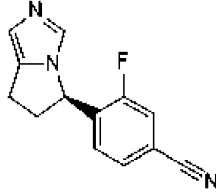
Таблица 18

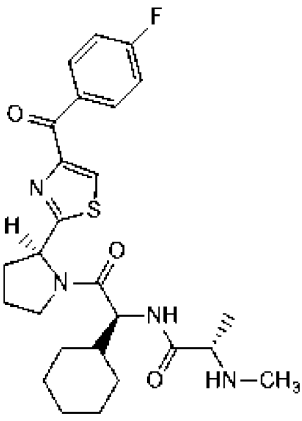
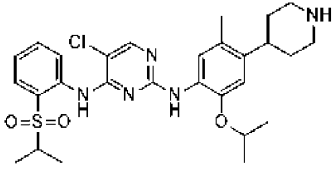
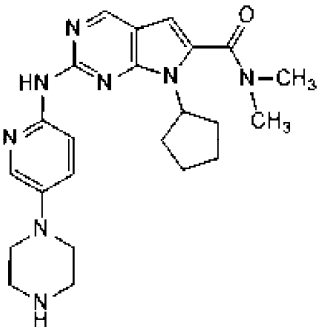
Отобранные терапевтические средства, которые можно вводить в комбинации с молекулами антитела к CD73, например, в виде отдельного средства или в комбинации с другими иммуномодуляторами, описанными в данном документе. Каждая публикация, перечисленная в этой таблице, включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, включая все структурные формулы

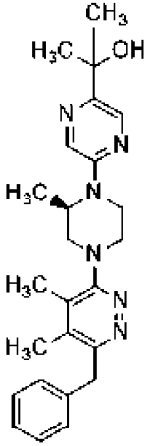
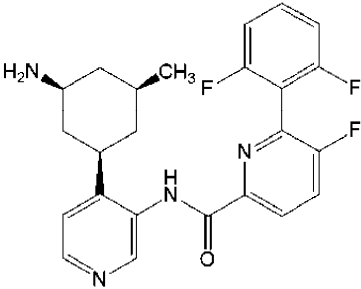
Обозначение соединения	Непатентованное название Торговое название	Структура соединения	Патенты/публикации заявок на патент
A1	Сотрастаурин		EP 1682103 US 2007/142401 WO 2005/039549

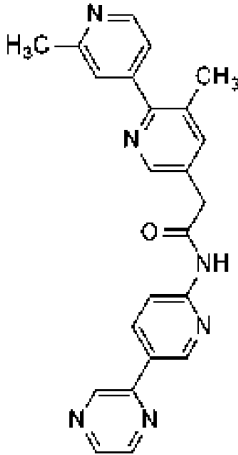
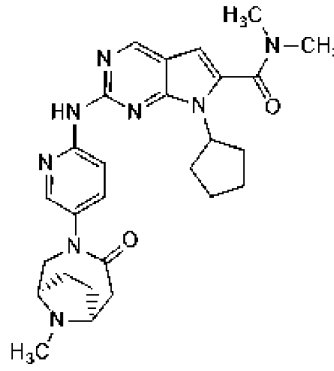
A11	Деферазирокс EXJADE®		WO 1997/049395
A12	Летрозол FEMARA®		US 4978672
A13			WO 2013/124826 US 2013/0225574
A14			WO 2013/111105

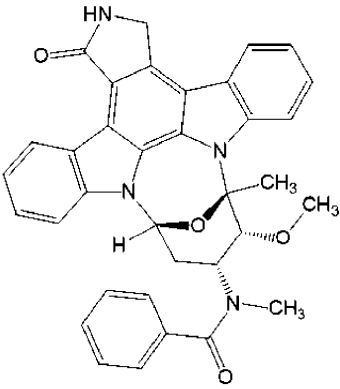
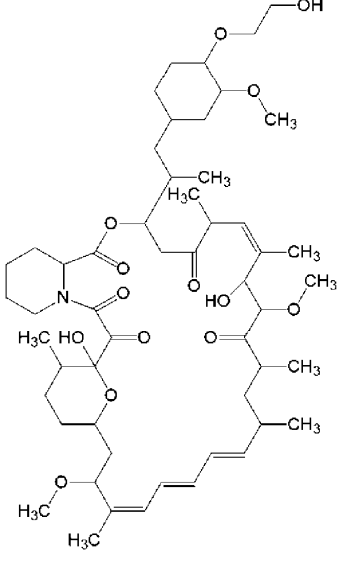
A15		 <p>The structure shows a central benzothiazole ring system. At the 2-position, there is a cyclohexane ring with a hydroxyl group (-OH) at the 1-position and an amino group (-NH-) at the 4-position. At the 4-position of the benzothiazole, there is a pyridine ring. At the 3-position of the pyridine ring, there is a methylamino group (-NH-CH₃) and a carbonyl group (-C=O).</p>	WO 2005/073224
A16	Иматиниба мезилат GLEEVEC®	 <p>The structure shows a central benzothiazole ring system. At the 2-position, there is a pyridine ring. At the 4-position of the benzothiazole, there is a benzene ring. At the 1-position of this benzene ring, there is a methyl group (-CH₃). At the 3-position of this benzene ring, there is a methylamino group (-NH-CH₃). At the 4-position of this benzene ring, there is a carbonyl group (-C=O). At the 5-position of this benzene ring, there is a piperazine ring with a methyl group (-CH₃) on the nitrogen atom. At the 6-position of this benzene ring, there is a pyridine ring.</p> <p>Мезилат</p>	WO 1999/003854

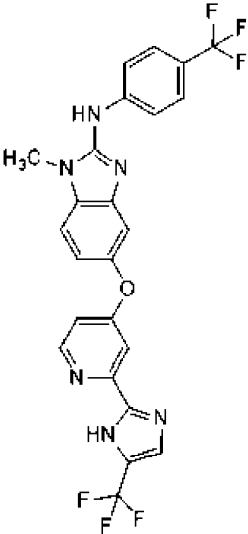
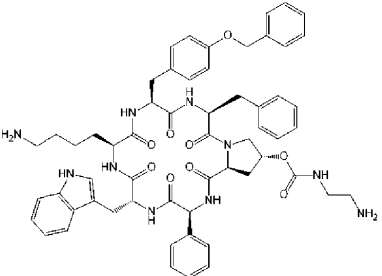
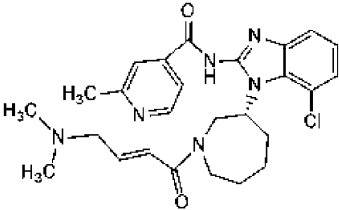
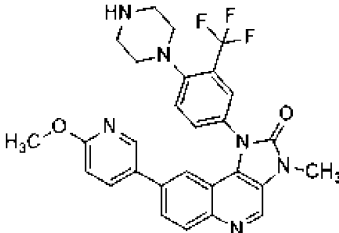
A17		 <p>Дигидрохлоридная соль</p>	EP 2099447 US 7767675 US 8420645
A18	Руксолитини ба фосфат JAKAFI®	 <p>H₃PO₄</p>	WO 2007/070514 EP 2474545 US 7598257 WO 2014/018632
A19	Панобиностат		WO 2014/072493 WO 2002/022577 EP 1870399
A20	Озилодростат		WO 2007/024945

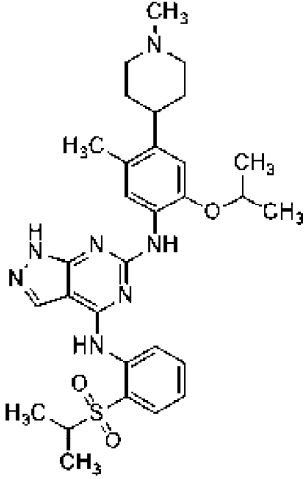
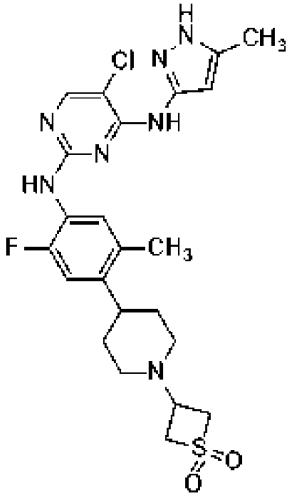
A21			<p>WO 2008/016893 EP 2051990 US 8546336</p>
A23	Церитиниб ZYKADIA™		<p>WO 2008/073687 US 8039479</p>
A24			<p>US 8415355 US 8685980</p>

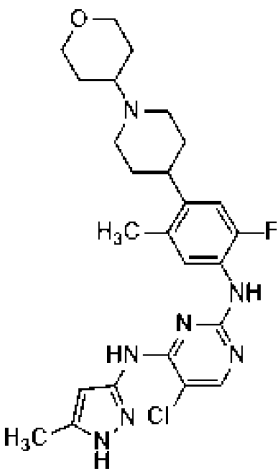
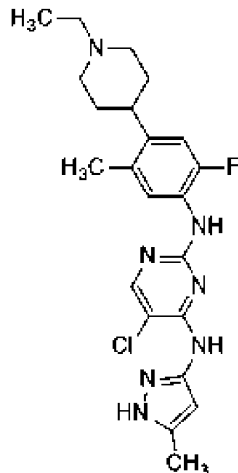
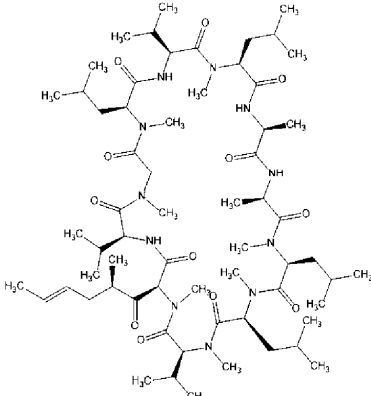
A25			WO 2010/007120
A26		<p>Человеческое антитело к PRLR</p> <p>моноклональное</p>	US 7867493
A27			<p>WO 2010/026124 EP 2344474 US 2010/0056576 WO2008/106692</p>

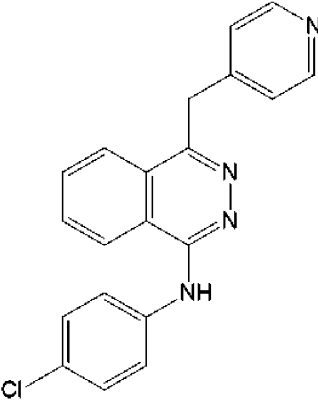
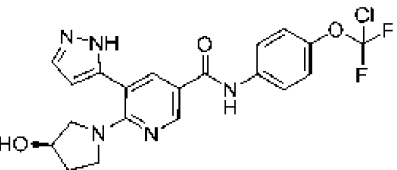
A28			WO 2010/101849
A30			WO 2011/101409
A31		Человеческое антитело к HER3	WO 2012/022814 EP 2606070 US 8735551
A32		Конъюгат антитела с лекарственным средством (ADC)	WO 2014/160160 Ab: 12425 (см. таблицу 1, абзац [00191]) Линкер: SMCC (см. абзац [00117]) Полезная нагрузка: DM1 (см. абзац [00111]) См. также п. 29 формулы изобретения
A33		Моноклональное антитело или Fab к M-CSF	WO 2004/045532

A35	Мидостаурин	 <p>The chemical structure of Midostaurin is a complex polycyclic molecule. It features a central indole-like ring system fused to a benzene ring. Attached to this system are a benzimidazole ring, a piperidine ring, and a piperazine ring. The piperazine ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The piperidine ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The benzimidazole ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The piperazine ring is substituted with a methyl group and a methoxy group.</p>	WO 2003/037347 EP 1441737 US 2012/252785
A36	Эверолимус AFINITOR®	 <p>The chemical structure of Everolimus is a complex polycyclic molecule. It features a central piperidine ring system fused to a piperazine ring. Attached to this system are a piperidine ring, a piperazine ring, and a piperidine ring. The piperazine ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The piperidine ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The piperidine ring is substituted with a methyl group and a methoxy group. The piperazine ring is substituted with a methyl group and a methoxy group.</p>	WO 2014/085318

A37			WO 2007/030377 US 7482367
A38	Пасиреотида диаспартат SIGNIFOR®		WO2002/010192 US 7473761
A40			WO 2013/184757
A41			WO 2006/122806

A42		 <p>Chemical structure of a pyridine derivative. The pyridine ring is substituted with a piperidine ring (with a methyl group on the nitrogen), a methyl group (H₃C), an isopropoxy group (O-CH(CH₃)₂), and a 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-ylamino group. The imidazopyridine group is further substituted with a 2-(propan-2-ylsulfonyl)phenylamino group.</p>	WO 2008/073687 US 8372858
A43		 <p>Chemical structure of a pyridine derivative. The pyridine ring is substituted with a chlorine atom (Cl), a methyl group (CH₃), a fluorine atom (F), and a 2-(4-(2-(propan-2-ylsulfonyl)phenylamino)pyridin-2-yl)imidazole-5-ylamino group.</p>	WO 2010/002655 US 8519129

A44			WO 2010/002655 US 8519129
A45			WO 2010/002655
A46	Валсподар AMDRA TM		EP 296122

A47	Ваталаниба сукцинат		WO 98/35958
A48		сукцинат Ингибитор IDH	WO2014/141104
A49		Ипгибитор BCR-ABL 	WO2013/171639 WO2013/171640 WO2013/171641 WO2013/171642
A50		Ингибитор cRAF	WO2014/151616
A51		АТФ-конкурентный ингибитор ERK1/2	WO2015/066188

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство выбрано из одного или нескольких из следующего: 1) ингибитора протеинкиназы С (PKC); 2) ингибитора белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитора цитохрома P450 (например, ингибитора CYP17 или ингибитора 17-альфа-гидроксилазы/C17-20-лиазы); 5) железохелатирующего средства; 6) ингибитора ароматазы; 7) ингибитора p53, например ингибитора взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктора апоптоза; 9) ингибитора ангиогенеза; 10) ингибитора альдостеронсинтазы; 11) ингибитора рецептора "smoothened" (SMO); 12) ингибитора рецептора пролактина (PRLR); 13) ингибитора передачи сигналов Wnt; 14) ингибитора CDK4/6; 15) ингибитора рецептора 2 фактора роста фибробластов (FGFR2)/рецептора 4 фактора роста фибробластов (FGFR4); 16) ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитора одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитора одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, c-KIT или Raf-киназы C; 19) агониста соматостатина и/или ингибитора высвобождения гормона роста; 20) ингибитора киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитора рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитора Р-гликопротеина 1; 23) ингибитора рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR); 24) ингибитора киназы BCR-ABL; 25) ингибитора FGFR; 26) ингибитора CYP11B2; 27) ингибитора HDM2, например ингибитора взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитора тирозинкиназы; 29) ингибитора c-MET; 30) ингибитора JAK; 31) ингибитора DAC; 32) ингибитора 11β-гидроксилазы; 33) ингибитора IAP; 34) ингибитора PIM-киназы; 35) ингибитора поркупина; 36) ингибитора BRAF, например BRAF V600E или BRAF дикого типа; 37) ингибитора HER3; 38) ингибитора MEK; или 39) ингибитора липидкиназы, описанных в данном документе и в табл. 18.

Иллюстративные ингибиторы тирозинкиназы включают без ограничения ингибитор пути эпидермального фактора роста (EGF) (например, ингибитор рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)), ингибитор пути фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR) (например, ингибитор VEGFR-1, ингибитор VEGFR-2, ингибитор VEGFR-3)), ингибитор пути фактора роста тромбоцитов (PDGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста тромбоцитов (PDGFR) (например, ингибитор PDGFR-β)), ингибитор RAF-1, ингибитор KIT и ингибитор RET.

В одном варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор PKC, сотрастуриин (соединение A1) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2005/039549, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PKC представляет собой сотрастуриин (соединение A1) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2005/039549. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с сотрастурином (соединением A1) или соединением,

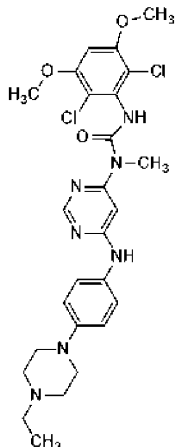
описанным в публикации согласно РСТ № WO 2005/039549, для лечения нарушения, такого как рак, меланома, неходжкинская лимфома, воспалительное заболевание кишечника, отторжение трансплантата, офтальмологическое нарушение или псориаз.

В одном варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор BCR-ABL, TASIGNA (соединение A2), или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2004/005281, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор BCR-ABL представляет собой TASIGNA или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2004/005281. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с TASIGNA (соединением A2) или соединением, описанным в публикации согласно РСТ № WO 2004/005281, для лечения нарушения, такого как лимфоцитарный лейкоз, болезнь Паркинсона, неврологический рак, меланома, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, миелоидный лейкоз, рак головы и шеи или легочная гипертензия.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, включает или используется в комбинации с ингибитором HSP90 для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе, например рака, множественной миеломы, немелкоклеточного рака легкого, лимфомы, рака ЖКТ, рака молочной железы, рака пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, рака поджелудочной железы, колоректального рака, солидной опухоли или нарушения кроветворения.

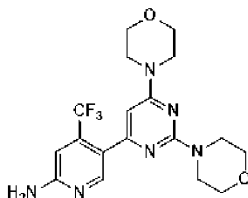
В другом варианте осуществления комбинацию, например комбинацию, содержащую молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, применяют в комбинации с ингибитором PI3K и/или mTOR, 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-оном (соединением A41) для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K и/или mTOR представляет собой 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-он (соединение A41). В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-оном (соединением A41) для лечения нарушения, такого как рак, рак предстательной железы, лейкоз (например, лимфоцитарный лейкоз), рак молочной железы, рак головного мозга, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, рак почки, солидная опухоль или рак печени.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор FGFR, 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение A5) или соединение, раскрытое в патенте США № 8552002, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение A5) или соединение, раскрытое в патенте США № 8552002. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с соединением A5 или соединением, описанным в US 8552002, для лечения нарушения, такого как рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, гематологический рак или солидная опухоль. Соединение A5 характеризуется следующей структурой:



В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор PI3K, бупарлизиб (соединение A6), или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/084786, или применяется в комби-

нации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой бупарлизиб (соединение А6) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/084786. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с бупарлизибом (соединением А6) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2007/084786, для лечения нарушения, такого как рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, эндокринный рак, лейкоз, рак яичника, меланома, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак женской репродуктивной системы, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, мультиформная глиобластома, солидная опухоль, неходжкинская лимфома, нарушение кроветворения или рак головы и шеи. Соединение А6 характеризуется следующей структурой:



В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор FGFR, 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксаимид (соединение А7), или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2009/141386, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксаимид (соединение А7) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2009/141386. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксаимид (соединение А7). В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксаимидом (соединением А7) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2009/141386, для лечения нарушения, такого как рак, характеризующийся ангиогенезом.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор PI3K, (S)-1H-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксаимид (соединение А8) или соединение, раскрытое в РСТ № WO 2010/029082, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксаимид (соединение А8) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2010/029082. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксаимидом (соединением А8) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2010/029082, для лечения нарушения, такого как рак ЖКТ, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, солидная опухоль и рак головы и шеи.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор цитохрома P450, (например, ингибитор CYP17) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2010/149755, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор цитохрома P450 (например, ингибитор CYP17) представляет собой CFG920 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2010/149755, US 8263635 B2 или EP 2445903 B1. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2010/149755, для лечения рака предстательной железы.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор HDM2, (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение А10) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2011/076786, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе). В одном варианте осуществления ингибитор HDM2 представляет собой (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение А10) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2011/076786. В одном вариан-

те осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1г,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-оном (соединением A10) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2011/076786, для лечения нарушения, такого как солидная опухоль.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит железо-хелатирующее средство, деферазирокс (также известное как EXJADE; соединение A11) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 1997/049395, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления железо-хелатирующее средство представляет собой деферазирокс или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 1997/049395. В одном варианте осуществления железо-хелатирующее средство представляет собой деферазирокс (соединение A11). В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с деферазироксом (соединением A11) или соединением, раскрытым в публикации РСТ № WO 1997/049395, для лечения перегрузки железом, гемохроматоза или миелодисплазии.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор ароматазы, летрозол (также известный как FEMARA; соединение A12) или соединение, раскрытое в патенте США № 4978672, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор ароматазы представляет собой летрозол (соединение A12) или соединение, раскрытое в патенте США 4978672. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с летрозолом (соединением A12) или соединением, раскрытым в патенте США 4978672, для лечения нарушения, такого как рак, лейомиосаркома, рак эндометрия, рак молочной железы, рак женской репродуктивной системы или гормональная недостаточность.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор Р13К, например, ингибитор всех форм Р13К, (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2013/124826, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор Р13К представляет собой (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2013/124826. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиримидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-оном (соединением A13) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO2013/124826, для лечения нарушения, такого как рак или солидная опухоль на поздней стадии.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор р53 и/или ингибитор взаимодействия р53/Mdm2, (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-он (соединение A14) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2013/111105, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор р53 и/или ингибитор взаимодействия р53/Mdm2 представляет собой (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-он (соединение A14) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2013/111105. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиримидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-оном (соединением A14) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO2013/111105, для лечения нарушения, такого как рак или саркома мягких тканей.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор тирозинкиназы CSF-1R, 4-((2-(((1R,2R))-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2005/073224, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор тирозинкиназы CSF-1R представляет собой 4-((2-(((1R,2R))-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2005/073224. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 4-((2-(((1R,2R))-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамидом (соединением A15) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2005/073224, для лечения нарушения, такого как рак.

В определенных вариантах осуществления ингибитор тирозинкиназы CSF-1R 4-((2-(((1R,2R))-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или со-

единение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2005/073224, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73) для лечения рака, например солидной опухоли (например, солидной опухоли на поздней стадии). Иллюстративные виды рака, которые можно подвергать лечению посредством комбинации, включают без ограничения рак мозга (например, мультиформную глиобластому (GBM), например рецидивирующую глиобластому), рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (например, NTBC)) или рак поджелудочной железы (например, рак поджелудочной железы на поздней стадии). Общие признаки этих видов рака включают, например, биологию опухолей, характеризующуюся высоким уровнем TAM в микроокружении опухоли, что может способствовать ускользанию от иммунного надзора и подавлению иммунитета. В некоторых вариантах осуществления блокада CSF-1R в сочетании со средством терапии на основе антитела к CD73 может, например, способствовать перепрограммированию TAM и/или устранять иммуносупрессию инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL).

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит индуктор апоптоза и/или ингибитор ангиогенеза, такой как мезилат иматиниба (также известный как GLEEVEC®; соединение A16), или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO1999/003854, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например описанного нарушения. В одном варианте осуществления индуктор апоптоза и/или ингибитор ангиогенеза представляет собой иматиниба мезилат (соединение A16) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO1999/003854. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с иматиниба мезилатом (соединением A16) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO1999/003854, для лечения нарушения, такого как рак, множественная миелома, рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, лимфома, рак ЖКТ, меланома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, колоректальный рак, мультиформная глиобластома, рак печени, рак головы и шеи, астма, рассеянный склероз, аллергия, болезнь Альцгеймера, амиотрофический боковой склероз или ревматоидный артрит.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитором JAK, 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-ил)метил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дигидрохлоридную соль или соединение, раскрытое в публикации РСТ № WO 2007/070514, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор JAK представляет собой 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-ил)метил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение A17) или его дигидрохлоридную соль или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/070514. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-ил)метил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамидом (соединением A17) или его дигидрохлоридной солью или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2007/070514, для лечения нарушения, такого как колоректальный рак, миелоидный лейкоз, гематологический рак, аутоиммунное заболевание, неходжкинская лимфома или тромбоцитемия.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор JAK, руксолитиниба фосфат (также известный как JAKAFI; соединение A18) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/070514, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор JAK представляет собой руксолитиниба фосфат (соединение A18) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/070514. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с руксолитиниба фосфатом (соединением A18) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2007/070514, для лечения нарушения, такого как рак предстательной железы, лимфоцитарный лейкоз, множественная миелома, лимфома, рак легкого, лейкоз, кахексия, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, ревматоидный артрит, псориаз, колоректальный рак, миелоидный лейкоз, гематологический рак, аутоиммунное заболевание, неходжкинская лимфома или тромбоцитемия.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор деацетилазы (DAC), панобиностат (соединение A19) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/072493, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор DAC представляет собой панобиностат (соединение A19) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/072493. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с панобиностатом (соединением A19), соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2014/072493, для лечения нарушения, такого как колоректальный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак респираторного тракта/грудной клетки, рак предстательной железы, множественная миелома, миелодиспластический синдром, рак кости, немелкоклеточный рак легкого, эндокринный рак, лимфома, неврологический рак, лейкоз, HTV/AIDS, имму-

нологическое нарушение, отторжение трансплантата, рак ЖКТ, меланома, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), рак поджелудочной железы, колоректальный рак, мультиформная глиобластома, миелоидный лейкоз, гематологический рак, рак почки, неходжкинская лимфома, рак головы и шеи, нарушения кроветворения или рак печени. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS CRC)), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака легких (TNBC)).

В некоторых вариантах осуществления комбинация, описанная в данном документе, содержит ингибитор деацетилазы (DAC), панобиностат (соединение A19) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/072493, и ингибитор молекулы, представляющей собой контрольную точку иммунного ответа, например ингибитор CD73 (например, молекулу антитела к CD73).

В одном варианте осуществления ингибитор DAC, панобиностат (соединение A19) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/072493, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73) для лечения колоректального рака (например, MSS CRC), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор одного или нескольких из цитохрома P450 (например, 11B2), альдостерона или ангиогенеза, озилдростат (соединение A20) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2007/024945, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор одного или нескольких из цитохрома P450 (например, 11B2), альдостерона или ангиогенеза представляет собой озилдростат (соединение A20) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2007/024945. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с озилдростатом (соединением A20) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO2007/024945, для лечения нарушения, такого как синдром Кушинга, гипертензия или сердечная недостаточность.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор IAP, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в US 8552003, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор IAP представляет собой (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, раскрытое в патенте США 8552003. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамидом (соединение A21) или соединением, раскрытым в патенте США № 8552003, для лечения нарушения, такого как множественная миелома, колоректальный рак (CLC), рак легких (например, немелкоклеточный рак легких (NSCLC)), рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), рак яичника, рак поджелудочной железы или нарушение кроветворения. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS CRC)), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака легких (TNBC)).

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор "smoothened" (SMO), (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ол (соединение A25) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2010/007120, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор SMO представляет собой (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ол (соединение A25) или соединение, раскрытое в публикации РСТ согласно WO 2010/007120. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-олом (соединением A25) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2010/007120, для лечения нарушения, такого как рак, медуллобластома, мелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы, базальноклеточная карцинома, рак поджелудочной железы или воспаление.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор Alk, церитиниб (также известный как ZYKADIA; соединение A23) или применяется в комбинации с ним для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор Alk представляет собой церитиниб (соединение A23). В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73

применяют в комбинации с церитинибом (соединение A23) для лечения нарушения, такого как немелкоклеточный рак легкого или солидные опухоли.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор JAK и/или CDK4/6, 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A24) или соединение, раскрытое в патенте США 8415355 или патенте США 8685980, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор JAK и/или CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A24) или соединение, раскрытое в патенте США 8415355 или патенте США 8685980. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамидом (соединением A24) или соединением, раскрытым в US 8415355 или US 8685980, для лечения нарушения, такого как лимфома, неврологический рак, меланома, рак молочной железы или солидная опухоль.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор рецептора пролактина (PRLR), молекулу человеческого моноклонального антитела (соединение A26), описанную в патенте США № 7867493, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PRLR представляет собой человеческое моноклональное антитело (соединение A26), раскрытое в US 7867493. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с молекулой человеческого моноклонального антитела (соединением A26), раскрытой в патенте США 7867493, для лечения нарушения, такого как рак, рак предстательной железы или рак молочной железы.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор PIM-киназы, N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамид (соединение A27) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2010/026124, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор PIM-киназы представляет собой N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамид (соединение A27) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2010/026124. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамидом (соединением A27) или соединением, раскрытым в публикации согласно PCT № WO 2010/026124, для лечения нарушения, такого как множественная миелома, миелодиспластический синдром, миелоидный лейкоз или неходжкинская лимфома.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор передачи сигналов Wnt, 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридином])-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамидом (соединение A28) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2010/101849, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например, нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор передачи сигналов Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение A28) или соединение, раскрытое в публикации согласно PCT № WO 2010/101849. В одном варианте осуществления ингибитор передачи сигналов Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение A28). В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиразин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамидом (соединением A28) или соединением, раскрытым в публикации согласно PCT № WO 2010/101849, для лечения нарушения, такого как солидная опухоль (например, рак головы и шеи, плоскоклеточная карцинома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы или рак толстой кишки). В определенных вариантах осуществления рак выбран из рака кожи (например, меланомы), солидной опухоли с высокой микросателлитной неустойчивостью (MSI-high), рака поджелудочной железы или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор BRAF или применяется в комбинации с ним для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе, например мелкоклеточного рака легкого, меланомы или колоректального рака.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор CDK4/6, 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A30) или соединение, раскрытое в публикации

согласно РСТ № WO 2011/101409, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение А30) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2011/101409. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 7-циклопентил-N, N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамидом (соединением А30) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2011/101409, для лечения нарушения, такого как рак, лимфома из клеток мантийной зоны, липосаркома, немелкоклеточный рак легкого, меланома, плоскоклеточный рак пищевода или рак молочной железы.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор HER3, соединение А31 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2012/022814, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор HER3 представляет собой соединение А31 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ WO 2012/022814. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с соединением А31 или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ WO 2012/022814, для лечения нарушения, такого как рак ЖКТ, рак пищевода, рак головы и шеи, плоскоклеточная карцинома, рак желудка, рак молочной железы (например, метастатический рак молочной железы) или рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор FGFR2 и/или FGFR4, соединение А32 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/160160 (например, конъюгат лекарственного средства и молекулы антитела к FGFR2 и/или FGFR4, например mAb 12425), или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR2 и/или FGFR4 представляет собой соединение А32 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/160160. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с соединением А32 или соединением, описанным в табл. 18, для лечения нарушения, такого как рак, рак ЖКТ, рак молочной железы, рабдомиосаркома, рак печени, рак надпочечника, рак легкого, рак пищевода, рак толстой кишки или рак эндометрия.

В некоторых вариантах осуществления соединение А32 представляет собой конъюгат лекарственного средства и молекулы антитела к FGFR2 и/или FGFR4, например mAb 12425.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор M-CSF, соединение А33 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2004/045532 (например, молекулу антитела или фрагмент Fab к M-CSF), или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор M-CSF представляет собой соединение А33 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2004/045532. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с соединением А33 или соединением, которое описано в публикации согласно РСТ № WO 2004/045532, для лечения нарушения, такого как рак, рак предстательной железы, рак молочной железы или пигментный villonodularный синовит (PVNS).

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор MEK или применяется в комбинации с ним для лечения нарушения, такого как немелкоклеточный рак легкого, мультисистемное генетическое нарушение, меланома, рак яичника, рак пищеварительного/желудочно-кишечного тракта, ревматоидный артрит или колоректальный рак.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор одного или нескольких из с-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC, мидостаурин (соединение А35) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2003/037347, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор представляет собой мидостаурин (соединение А35) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2003/037347. В одном варианте осуществления ингибитор одного или нескольких из с-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC представляет собой мидостаурин. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с мидостаурином (соединением А35) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2003/037347, для лечения нарушения, такого как рак, колоректальный рак, миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, возрастная макулярная дегенерация, диабетическое осложнение или дерматологическое нарушение.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу анти-

тела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор TOR (например, ингибитор mTOR), эверолимус (также известный как AFINITOR; соединение A36) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/085318, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор TOR представляет собой эверолимус (соединение A36) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/085318. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с эверолимусом (соединением A36) для лечения нарушения, такого как колоректальный рак, интерстициальное заболевание легких, мелкоклеточный рак легкого, рак респираторного тракта/грудной клетки, рак предстательной железы, множественная миелома, саркома, возрастная макулярная дегенерация, рак кости, туберозный склероз, немелкоклеточный рак легкого, эндокринный рак, лимфома, неврологические нарушения, астроцитомы, рак шейки матки, неврологический рак, лейкоз, иммунологические нарушения, отторжение трансплантата, рак ЖКТ, меланома, эпилепсия, рак молочной железы (например, трижды негативного рака легких (TNBC) или рак мочевого пузыря). В некоторых вариантах осуществления раком выбран из колоректального рака (например, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS CRC)), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака легких (TNBC)).

В некоторых вариантах осуществления комбинация, описанная в данном документе, содержит ингибитор mTOR, эверолимус (соединение A36) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2014/085318, и ингибитор молекулы, представляющей собой контрольную точку иммунного ответа, например ингибитор CD73 (например, молекулу антитела к CD73).

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор одного или нескольких из VEGFR-2, PDGFRbeta, KIT или киназы Raf C, 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или с соединением, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/030377, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор одного или нескольких из VEGFR-2, PDGFRbeta, KIT или киназы Raf C представляет собой 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2007/030377. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амином (соединением A37) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2007/030377, для лечения нарушения, такого как рак, меланома или солидная опухоль.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит агонист соматостатина и/или ингибитор высвобождения гормона роста, пасиреотида диаспартат (также известный как SIGNTFOR; соединение A38), или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2002/010192 или патенте США № 7473761, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления агонист соматостатина и/или ингибитор высвобождения гормона роста представляет собой пасиреотида диаспартат (соединение A38) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2002/010192 или патенте США № 7473761. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с пасиреотида диаспартатом (соединением A38) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO2002/010192 или патенте США № 7473761, для лечения нарушения, такого как рак предстательной железы, эндокринный рак, неврологический рак, нейроэндокринная опухоль (NET) (например, атипичная карциноидная опухоль легкого), рак кожи (например, меланома или карцинома Меркеля), рак поджелудочной железы, рак печени, синдром Кушинга, нарушение функции желудочно-кишечного тракта, акромегалия, нарушение функции печени и желчных протоков или цирроз печени.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит модулятор трансдукции сигнала и/или ингибитор ангиогенеза или применяется в комбинации с ними, например, для лечения нарушения, такого как рак, рак респираторного тракта/грудной клетки, множественная миелома, рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, эндокринный рак или неврологическое генетическое нарушение.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор EGFR, (R,E)-N'-(7-хлор-1-(1)-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в РСТ № WO 2013/184757, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор EGFR представляет собой (R,E)-N'-(7-хлор-1-(1)-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2013/184757. В одном варианте осуществления молекулу

антитела к CD73 применяют в комбинации с (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамидом (соединением A40) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2013/184757, для лечения нарушения, такого как рак, например солидная опухоль.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор EGFR, (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение A40) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2013/184757, вводят в комбинации с ингибитором CD73 (например, молекулой антитела к CD73) для лечения колоректального рака (CRC), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)) или рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы (TNBC)).

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор ALK, N-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамин (соединение A42) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2008/073687, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор ALK представляет собой N⁶-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамин (соединение A42) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2008/073687. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с N-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамином (соединением A42) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2008/073687, для лечения нарушения, такого как рак, анапластическая крупноклеточная лимфома (ALCL), немелкоклеточная карцинома легкого (NSCLC) или нейробластома.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор IGF-1R, 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиэтан-1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A44) или 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A45) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2010/002655, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например описанного нарушения. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R представляет собой 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиэтан-1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A44), 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A45) или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO 2010/002655. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиэтан-1,1-диоксидом (соединением A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединением A44), 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединением A45) или соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO 2010/002655, для лечения нарушения, такого как рак или саркома.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор Р-гликопротеина 1, валсподар (также известный как AMDRAY; соединение A46) или соединение, раскрытое в EP 296122, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор Р-гликопротеина 1 представляет собой валсподар (соединение A46) или соединение, раскрытое в EP 296122. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с валсподаром (соединением A46) или соединением, раскрытым в EP 296122, для лечения нарушения, такого как рак или опухоль, резистентная к лекарственным средствам.

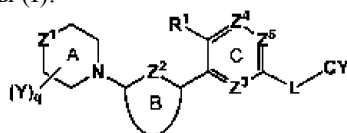
В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит один или несколько из ингибитора VEGFR, сукцинат ваталаниба (соединения A47) или соединения, раскрытого в EP 296122, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор VEGFR представляет собой ваталаниба сукцинат (соединение A47) или соединение, раскрытое в EP 296122. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с ваталаниба сукцинатом (соединением A47) или соединением, описанным в EP 296122, для лечения рака.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор IDH или соединение, раскрытое в

WO2014/141104, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор IDH представляет собой соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2014/141104. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации соединением, описанным в WO2014/141104, для лечения нарушения, такого как рак.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор BCL-ABL или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2013/171639, WO2013/171640, WO2013/171641 или WO2013/171642, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор BCL-ABL представляет собой соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2013/171639, WO2013/171640, WO2013/171641 или WO2013/171642. В одном варианте осуществления молекулу антитела к CD73 применяют в комбинации с соединением, раскрытым в публикации согласно РСТ № WO2013/171639, WO2013/171640, WO2013/171641 или WO2013/171642, для лечения нарушения, такого как рак.

В другом варианте осуществления комбинация, например комбинация, содержащая молекулу антитела к CD73, описанную в данном документе, содержит ингибитор c-RAF или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2014/151616, или применяется в комбинации с ними для лечения нарушения, например нарушения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления ингибитор c-RAF представляет собой соединение A50 или соединение, раскрытое в публикации согласно РСТ № WO2014/151616. В некоторых вариантах осуществления ингибитор c-RAF или соединение A50 представляет собой соединение формулы (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемую соль, где

Z¹ представляет собой O, S, S(=O) или SO₂;

Z² представляет собой N, S или CR^a, где R^a представляет собой H, галоген, C₁₋₄-алкил или C₁₋₄-галогеналкил;

R¹ представляет собой CN, галоген, OH, C₁₋₄-алкокси или C₁₋₄-алкил, который необязательно замещен одной-тремя группами, выбранными из галогена, C₁₋₄-алкокси, CN или гидроксила;

Кольцо В выбрано из фенила, пиридина, пиримидина, пиазина, пиридазина, пиридола, пиримидола, пиазинола, пиридазинола и тиазола, каждый из которых необязательно замещен не более чем двумя группами, выбранными из галогена, OH, CN, C₁₋₄-алкила, C₂₋₄-алкенила, -O-(C₁₋₄-алкила), NH₂, NH-(C₁₋₄-алкила), -N(C₁₋₄-алкила)₂, -SO₂R², NHSO₂R², NHC(O)R², NHCO₂R², C₃₋₆-циклоалкила, 5-6-членного гетероарила, -O-C₃₋₆-циклоалкила, -O-(5-6-членного гетероарила), C₄₋₈-гетероциклоалкила и -O-(4-8-членного гетероциклоалкила), где каждый их гетероциклоалкила и гетероарила содержит не более трех гетероатомов, выбранных из N, O и S, в качестве членов кольца,

где каждый C₁₋₄-алкил, C₂₋₄-алкенил, C₃₋₆-циклоалкил, 5-6-членный гетероарил и 4-8-членный гетероциклоалкил, каждый необязательно замещен не более чем тремя группами, выбранными из оксо, гидроксила, галогена, C₁₋₄-алкила, C₁₋₄-галогеналкила, C₁₋₄-алкокси и -(CH₂)₁₋₂Q, где Q представляет собой OH, C₁₋₄-алкокси, -CN, NH₂, -NHR³, -N(R³)₂, -SO₂R³, NHSO₂R³, NHC(O)OR³ или NHC(O)R³; каждый R² и R³ независимо представляет собой C₁₋₄-алкил; и

Кольцо В необязательно конденсировано с 5-6-членным ароматическим или неароматическим кольцом, содержащим не более двух гетероатомов, выбранных из N, O и S, при этом 5-6-членное кольцо может быть замещено галогеном, C₁₋₄-алкилом, C₁₋₄-галогеналкилом или C₁₋₄-алкокси, и если конденсированное кольцо не является ароматическим, варианты заместителя могут дополнительно включать оксо;

каждый Y независимо выбран из C₁₋₄-алкила, C₁₋₄-алкокси, CN, галогена, оксо, -(CH₂)_pOR⁴, -(CH₂)_pN(R⁴)₂, -(CH₂)_pNHC(O)R⁴, -(CH₂)_pNHCOO(C₁₋₄-алкила) и имидазола.

или две группы Y в кольце А необязательно вместе образуют кольцо, конденсированное с кольцом А или образующее мостиковую связь с ним, где указанное кольцо, присоединенное путем конденсации или образования мостиковой связи, необязательно содержит гетероатом, выбранный из N, O и S, в качестве члена кольца, и необязательно замещен не более чем двумя группами, выбранными из C₁₋₄-алкила, C₁₋₄-алкокси, CN, галогена, оксо, -(CH₂)_pOR⁴, -(CH₂)_pN(R⁴)₂, -(CH₂)_pNHC(O)R⁴, и -(CH₂)_pNHCOO(C₁₋₄-алкила);

каждый R⁴ независимо представляет собой H или C₁₋₄-алкил;

каждое p независимо равняется 0, 1 или 2;

q равняется 0, 1 или 2;

Z³, Z⁴ и Z⁵ независимо выбраны из CH и N, и необязательно NO;

L представляет собой -C(=O)-NR⁴-[CY] или -NR⁴-C(=O)-[CY], где [CY] указывает, какой атом L

присоединен к СУ; и

СУ представляет собой ароматическое кольцо, выбранное из фенила, пиридина, пиримидина, пиразина, пиридазина, пиридола, тиазола, изотиазола, оксазола, пиразола и изоксазола, при этом кольцо обязательно слито с кольцом, представляющим собой тиофен, имидазол, оксазолон или пиррол;

и СУ замещен не более чем двумя группами, выбранными из галогена, CN, R⁵, OR⁵, SO₂R⁵, S(=NH)(=O)R⁵, OH, NH₂, NHR⁵ и -N(R⁵)₂,

где каждый R⁵ независимо представляет собой C₁₋₄-алкил, C₂₋₄-алкенил, C₂₋₆-гетероцикл, 5-членный гетероарил, содержащий до трех гетероатомов, выбранных из N, O и S, в качестве членов кольца или C₃₋₈-циклоалкил, и R⁵ необязательно замещен не более чем четырьмя группами, выбранными из оксо, галогена, CN, R⁶, OH, OR⁶, SO₂R⁶, NH₂, NHR⁶, N(R⁶)₂, NHSO₂R⁶, NHCOOR⁶, NHC(=O)R⁶, -CH₂OR⁷, -CH₂N(R⁷)₂, где каждый

R⁶ независимо представляет собой C₁₋₄-алкил, и каждый R⁷ независимо представляет собой H или C₁₋₄-алкил;

и два R⁴, R⁵, R⁶ или R⁷ на одном и том же атоме азота могут быть взяты вместе для образования 5-6-членного гетероциклического кольца, необязательно содержащего дополнительный N, O или S в качестве члена кольца и необязательно замещенного с помощью не более двух групп, выбранных из C₁₋₄-алкила, оксо, галогена, OH и C₁₋₄-алкокси.

Способы введения молекул антитела известны из уровня техники и описаны ниже. Подходящие дозировки используемых молекул будут зависеть от возраста и веса субъекта и конкретного применяемого лекарственного средства. Дозировки и терапевтические схемы приема молекулы антитела к CD73 могут быть определены специалистом в данной области техники.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят путем инъекции (например, внутривенно) в дозе (например, фиксированной дозе) от приблизительно 60 мг до 2400 мг, например от приблизительно 100 мг до 2400 мг, от приблизительно 100 мг до 2200 мг, от приблизительно 100 мг до 2000 мг, от приблизительно 100 мг до 1800 мг, от приблизительно 100 мг до 1600 мг, от приблизительно 100 мг до 1400 мг, от приблизительно 100 мг до 1200 мг, от приблизительно 100 мг до 1000 мг, от приблизительно 100 мг до 800 мг, от приблизительно 100 мг до 600 мг, от приблизительно 100 мг до 400 мг, от приблизительно 100 мг до 200 мг или приблизительно 100 мг, приблизительно 180 мг или приблизительно 200 мг. Схема введения доз может варьировать от, например, раза в неделю до раза в 2, 3 или 4 недели. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в дозе приблизительно 100 мг раз в две недели путем внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в дозе по меньшей мере приблизительно 180 мг раз в две недели путем внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в дозе приблизительно 200 мг раз в две недели путем внутривенной инфузии.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73, раскрытую в данном документе, вводят путем инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе (например, фиксированной дозе) от приблизительно 5 мг до 100 мг, от приблизительно 100 мг до 500 мг, от приблизительно 500 мг до 1000 мг, от приблизительно 1000 мг до 1500 мг, от приблизительно 1500 мг до 2000 мг, от приблизительно 2000 мг до 2500 мг, от приблизительно 2500 мг до 3000 мг, от приблизительно 3000 мг до 3500 мг или от приблизительно 3500 мг до 4000 мг, например раз в неделю (QW), раз в две недели (Q2W) или раз в четыре недели (Q4W). В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 6 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 2400 мг, приблизительно 3000 мг, или приблизительно 3600 мг, например QW, Q2W или Q4W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 60 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 200 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 600 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 1200 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 2400 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 3000 мг Q2W. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела вводят, например внутривенно, в дозе приблизительно 3600 мг Q2W.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят путем инъекции (например, внутривенно) в дозе от приблизительно 1 до 30 мг/кг, например от приблизительно 5 до 25 мг/кг, от приблизительно 10 до 20 мг/кг, от приблизительно 1 до 5 мг/кг или приблизительно 3 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в дозе приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг или 10 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг или приблизительно 40 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в дозе приблизительно 1-3 мг/кг или приблизительно 3-10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела к CD73 вводят в дозе приблизительно 0,5-2, 2-4, 2-5, 5-15 или 5-20 мг/кг. Схема введения доз может варьировать от, например, раза в неделю до раза в 2, 3 или 4 недели. В одном варианте осуществления молеку-

лу антитела к CD73 вводят в дозе от приблизительно 10 до 20 мг/кг раз в две недели.

Молекулы антител могут применяться в виде неконъюгированных форм или конъюгированных со вторым средством, например цитотоксическим лекарственным средством, радиоизотопом или белком, например белковым токсином или вирусным белком. Такой способ предусматривает: введение молекулы антитела, отдельно или конъюгированной с цитотоксическим лекарственным средством, субъекту, нуждающемуся в таком лечении. Молекулы антител можно применять для доставки различных терапевтических средств, например цитотоксического фрагмента, например терапевтического лекарственного средства, радиоизотопа, молекул растительного, грибкового или бактериального происхождения или белков биологического происхождения (например, белковых токсинов) или частиц (например, рекомбинантных вирусных частиц, например, с помощью белка оболочки вируса) или их смеси.

Диагностические пути применения

В одном аспекте в настоящем изобретении обеспечивают способ диагностики для обнаружения присутствия белка CD73 *in vitro* (например, в биологическом образце, таком как биоптат ткани, например, из раковой ткани) или *in vivo* (например, визуализация в субъекте *in vivo*). Способ предусматривает: (i) приведение образца в контакт с молекулой антитела, описанной в данном документе, или введение субъекту молекулы антитела; (необязательно) (ii) приведение в контакт эталонного образца, например контрольного образца (например, контрольного биологического образца, такого как плазма крови, ткань, биоптат) или контрольного субъекта); и (iii) обнаружение образования комплекса между молекулой антитела и образцом или субъектом, или контрольным образцом или субъектом, где изменение, например статистически значимое изменение, в образовании комплекса в образце или субъекте относительно контрольного образца или субъекта свидетельствует о наличии CD73 в образце. Молекулу антитела можно прямо или косвенно метить с помощью вещества, обеспечивающего обнаружение, для обеспечения обнаружения связанного или несвязанного антитела. Подходящие вещества, обеспечивающие обнаружение, включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы и радиоактивные материалы, описанные выше и описанные более подробно ниже.

Термин "образец", если он относится к образцам, применяемым для обнаружения полипептидов, предусматривает без ограничения клетки, клеточные лизаты, белки или мембранные экстракты клеток, биологические жидкости или образцы тканей.

Образование комплекса между молекулой антитела и CD73 может быть обнаружено путем измерения или визуализации либо связывающей молекулы, связанной с антигеном CD73, либо несвязанной связывающей молекулы. Можно применять традиционные анализы для обнаружения, например варианты иммуноферментного анализа (ELISA), радиоиммуноанализ (RIA) или иммуногистохимию ткани. В качестве альтернативы мечению молекулы антитела, присутствие CD73 можно анализировать в образце с помощью конкурентного иммунологического анализа с использованием стандартов, меченных веществом, обеспечивающим обнаружение, и немеченой молекулы антитела. В этом анализе биологический образец, меченые стандарты и молекулу антитела объединяют и определяют количество меченого стандарта, связанного с немеченой связывающей молекулой. Количество CD73 в образце обратно пропорционально количеству меченого стандарта, связанного с молекулой антитела.

Нуклеиновые кислоты

В настоящем изобретении также описаны нуклеиновые кислоты, содержащие нуклеотидные последовательности, которые кодируют переменные области тяжелой и легкой цепи и CDR или гипервариабельные петли молекул антитела к CD73, описанных в данном документе. Например, настоящее изобретение относится к первой и второй нуклеиновой кислоте, кодирующей переменные области тяжелой и легкой цепи, соответственно, молекулы антитела к CD73, выбранной из одной или нескольких молекул антитела, раскрытых в данном документе. Нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути идентичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней, или которая отличается на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, показанных в табл. 1).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из переменной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или имеющую одну или несколько замен, например консервативных замен). В других вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из переменной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или имеющую одну или несколько замен, например консервативных замен). В еще других вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей

мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR или гипервариабельных петель из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или имеющую одну или несколько замен, например консервативных замен).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей нуклеотидную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или способную гибридизоваться в жестких условиях, описанных в данном документе). В других вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельные петли из вариабельной области легкой цепи, имеющей нуклеотидную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или способную гибридизоваться в жестких условиях, описанных в данном документе). В других вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR или гипервариабельных петель из вариабельных областей легкой цепи, имеющей нуклеотидную последовательность, изложенную в табл. 1, или последовательность, по сути гомологичную ей (например, последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 95%, или 99% идентичностью последовательности с ней и/или способную гибридизоваться в жестких условиях, описанных в данном документе).

В одном аспекте настоящая заявка относится к клеткам-хозяевам и векторам, содержащим нуклеиновые кислоты, описанные в данном документе. Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в одном векторе или отдельных векторах, присутствующих в одной и той же клетке-хозяине или отдельной клетке-хозяине, как более детально описано в данном документе ниже.

Векторы

В данном документе дополнительно предусмотрены векторы, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие молекулу антитела, описанную в данном документе. В одном варианте осуществления векторы содержат нуклеотиды, кодирующие молекулу антитела, описанную в данном документе. В другом варианте осуществления векторы содержат нуклеотидные последовательности, описанные в данном документе. Векторы включают без ограничения вирус, плазмиду, космиду, лямбда-фаг или дрожжевую искусственную хромосому (YAC).

Можно применять многочисленные векторные системы. Например, в одном классе векторов используют элементы ДНК, которые получены из вирусов животных, таких как, например, вирус бычьей папилломы, вирус полиомы, аденовирус, вирус коровьей оспы, бакуловирус, ретровирусы (вирус саркомы Рауса, MMTV или MOMLV) или вирус SV40. Другой класс векторов использует элементы РНК, полученные из РНК-вирусов, таких как вирус леса Семлики, вирус восточного энцефалита лошадей и флавивирусы.

Кроме того, клетки, которые стабильно интегрировали ДНК в свои хромосомы, могут быть отображены путем введения одного или нескольких маркеров, которые позволяют отобрать трансфицированные клетки-хозяева. Маркер может обеспечивать, например, прототропию для ауксотрофного хозяина, устойчивость к биоцидам (например, антибиотикам) или устойчивость к тяжелым металлам, таким как медь или т. п. Селектируемый маркерный ген может быть либо непосредственно связан с последовательностями ДНК, которые должны быть экспрессированы, либо введен в ту же клетку путем котрансформации. Дополнительные элементы также могут быть необходимы для оптимального синтеза mRNA. Эти элементы могут включать сигналы сплайсинга, а также промоторы транскрипции, энхансеры и сигналы терминации.

Как только вектор экспрессии или последовательность ДНК, содержащая конструкции, готовы для экспрессии, векторы экспрессии можно трансфицировать или вводить в соответствующую клетку-хозяина. Для достижения этого можно использовать различные методики, такие как, например, слияние протопластов, осаждение фосфатом кальция, электропорация, ретровирусная трансдукция, вирусная трансфекция, генная пушка, трансфекция на основе липидов или другие традиционные методы. В случае слияния протопластов клетки выращивают в среде и подвергают скринингу в отношении соответствующей активности. Способы и условия культивирования полученных трансфицированных клеток и извлечения полученной молекулы антитела известны специалистам в данной области и могут варьироваться или оптимизироваться в зависимости от конкретного вектора экспрессии и используемой клетки-хозяина млекопитающего на основании настоящего описания.

Клетки

Настоящее изобретение также относится к клеткам-хозяевам, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу антитела, описанную в данном документе.

В одном варианте осуществления клетки-хозяева генетически сконструированы так, чтобы содержать нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулу антитела.

В одном варианте осуществления клетки-хозяева генетически сконструированы с применением экспрессионной кассеты. Фраза "экспрессионная кассета" относится к нуклеотидным последовательностям, которые способны влиять на экспрессию гена в хозяевах, совместимых с такими последовательностями. Такие кассеты могут включать в себя промотор, открытую рамку считывания с нитронами или без них и сигнал терминации. Также можно применять дополнительные факторы, необходимые или полезные для воздействия на экспрессию, такие как, например, индуцибельный промотор.

Настоящее изобретение также относится к клеткам-хозяевам, содержащим векторы, описанные в данном документе.

Клетка может представлять собой без ограничения эукариотическую клетку, бактериальную клетку, клетку насекомого или клетку человека. Подходящие эукариотические клетки включают без ограничения клетки Vero, клетки HeLa, клетки COS, клетки CHO (например, клетки CHO-C8TD), клетки HEK293, клетки ВНК и клетки MDCKII. Подходящие клеточные хозяева включают без ограничения клетки Sf9.

Примеры

Приведенные ниже примеры изложены в целях облегчения понимания настоящего изобретения, но не предназначены и не должны толковаться как ограничивающие его объем каким-либо образом.

Пример 1. Получение и определение характеристик антител к CD73

Отбор и оптимизация антител к CD73 из синтетических дрожжевых библиотек антител

Моноклональные антитела к CD73, представляющие пять различных эпитопных бинов, отбирали из восьми синтетических дрожжевых библиотек интактных антител человека с применением способов, описанных ниже.

Материалы и способы

Антигены биотинилировали с использованием набора EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation от Pierce. Козий F(ab')₂ к человеческому каппа-FITC (LC-FITC), ExtrAvidin-PE (EA-PE) и стрептавидин-AF633 (SA-633) получали от Southern Biotech, Sigma и Molecular Probes соответственно. Стрептавидиновые микрогранулы и разделительные колонки MACS LC приобретали у Miltenyi Biotec. Козье антитело к человеческому IgG-PE (Human-PE) получали от Southern Biotech.

Первичное обнаружение

Восемь синтетических дрожжевых библиотек интактных человеческих антител, каждая при разнообразии ~10⁹, размножали, как описано ранее (см., например, Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. PDS 26.10, 663-70 (2013); WO2009036379; WO2010105256 и WO2012009568, включенные в данный документ посредством ссылок во всей их полноте. Для первых двух раундов отбора осуществляли методику сортировки с магнитными гранулами с применением системы Miltenyi MACS, как описано ранее (см., например, Siegel et al, High efficiency recovery and epitope-specific sorting of an scFv yeast display library. J Immunol Methods 286(1-2), 141-153 (2004), включенный в данный документ при помощи ссылки во всей своей полноте). Вкратце, дрожжевые клетки (~10¹⁰ клеток/библиотека) инкубировали с 3 мл 100 нМ биотинилированного антигена в течение 30 мин при 30°C в промывочном буфере (фосфатно-буферный солевой раствор (PBS)/0,1% бычьего сывороточного альбумина (BSA)). После однократной промывки с помощью 40 мл ледяного промывочного буфера осадок клеток ресуспендировали в 20 мл промывочного буфера и к дрожжам добавляли стрептавидиновые микрогранулы (500 мкл) и инкубировали в течение 15 мин. при 4°C. Затем дрожжевые клетки осаждали, ресуспендировали в 20 мл промывочного буфера и загружали в колонку Miltenyi LS. После загрузки 20 мл колонку промывали 3 раза с помощью 3 мл промывочного буфера. Колонку затем удаляли из магнитного поля, а дрожжевые клетки элюировали 5 мл питательной среды и затем выращивали в течение ночи. Следующие раунды отбора выполняли с применением проточной цитометрии. Примерно 2×10⁷ дрожжевых клеток осаждали, трижды промывали промывочным буфером и инкубировали при 30°C либо с уменьшающимися концентрациями биотинилированного антигена (от 100 до 1 нМ) в равновесных условиях, с 30 нМ биотинилированных антигенов разных видов для получения видовой перекрестной реактивности, либо с реагентом истощения полиспецифичности (PSR) для удаления неспецифических антител из отбора. Для истощения PSR библиотеку инкубировали с разведением 1:10 биотинилированного реагента PSR, как описано ранее (см., например, Y. Xu et al, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. PDS 26.10, 663-70 (2013), включенный в данный документ при помощи ссылки во всей своей полноте). Затем дрожжевые клетки дважды промывали промывочным буфером и окрашивали LC-FITC (разбавленным 1:100) и либо SA-633 (разбавленным 1:500), либо EAPE (разбавленным 1:50) вторичными реагентами в течение 15 мин при 4°C. После промывки дважды промывочным буфером клеточные осадки ресуспендировали в 0,3 мл промывочного буфера и переносили в сортировочные пробирки с крышками с фильтром. Сортировку проводили с помощью сортировщика FACS ARIA (BD Biosciences) и определяли сортировочные ворота для отбора антител с желаемыми характеристиками. Отборочные раунды повторяли до тех пор, пока не получали попу-

ляцию со всеми желаемыми характеристиками. После последнего раунда сортировки дрожжевые клетки высевали и отбирали отдельные колонии для определения характеристик.

Протокол диверсификации легких цепей применяли во время первичной фазы обнаружения для дальнейшего обнаружения и улучшения антител.

Протокол диверсификации партии легких цепей. Плазмиды для тяжелых цепей из результатов "интактного" отбора извлекали из дрожжей посредством разбивания и захвата, размножали и затем очищали из *E.coli* и трансформировали в библиотеку легких цепей при разнообразии 5×10^6 . Отборы выполняли с помощью одного раунда MACS и четырех раундов FACS с применением тех же условий, что и при "интактном" обнаружении.

Оптимизация антител

Оптимизацию антител проводили путем введения различий в переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, как описано ниже.

Отбор CDRH1 и CDRH2. CDRH3 одного антитела рекомбинировали в предварительно созданную библиотеку с вариантами CDRH1 и CDRH2 при разнообразии 1×10^8 , а отбор проводили с помощью одного раунда MACS и четырех раундов FACS, как описано при "интактном" обнаружении. В различных раундах FACS исследовали библиотеки на предмет связывания PSR, перекрестной реактивности между видами и аффинного давления путем титрования или предварительного комплексообразования исходного Fab и проводили сортировку для получения популяции с желаемыми характеристиками.

Получение и очистка антител

Клоны дрожжей выращивали до насыщения и затем индуцировали в течение 48 ч при 30°C при встряхивании. После индукции дрожжевые клетки осаждали и супернатанты собирали для очистки. IgG очищали с применением колонки с белком А и элюировали уксусной кислотой, pH 2,0. Фрагменты Fab получали путем расщепления папаином и очищали с помощью KappaSelect (GE Healthcare LifeSciences).

Измерения K_D с помощью ForteBio

Измерения аффинности с помощью ForteBio выполняли на Octet RED384 в целом, как описано ранее (см., например, Estep et al, High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning. *Mabs* 5(2), 270-278 (2013), включенный в данный документ при помощи ссылки во всей своей полноте). Вкратце, измерения аффинности с помощью ForteBio выполняли путем загрузки IgG в режиме онлайн на сенсоры АНQ. Сенсоры уравнивали в автономном режиме в буфере для анализа в течение 30 мин. и затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления исходного уровня. Сенсоры с загруженными IgG подвергали воздействию 100 нМ антигена в течение 3 мин, а затем переносили в буфер для анализа в течение 3 мин. для измерения несоответствия. Все кинетические параметры анализировали с применением модели связывания 1:1. Используемые антигены представляли собой:

CD73-His человека: рекомбинантный человеческий белок 5'-нуклеотидаза/CD73, CF от R&D Systems, кат.: 5795-EN;

CD73-His мыши: Рекомбинантный мышинный белок 5'-нуклеотидаза/CD73, CF от R&D Systems, кат.: 4488-EN;

CD73-His макака-крабояда: белок CD73/NT5E (His-метка) макака-крабояда от SinoBiological, кат.: 90192-C08H-50.

Эпитопспецифическая сортировка/блокировка лигандов ForteBio

Эпитопспецифическую сортировку/блокировку лигандов проводили с применением стандартного анализа перекрестного блокирования в сэндвич-формате. Контрольный IgG к мишени загружали на сенсоры АНQ, а незанятые Fc-связывающие сайты на сенсоре блокировали нерелевантным человеческим антителом IgG1. Затем сенсоры подвергали воздействию 100 нМ антигена-мишени с последующим добавлением второго антитела к мишени или лиганда. Дополнительное связывание вторым антителом или лигандом после ассоциации антигена указывает на незанятый эпитоп (не конкурент), тогда как отсутствие связывания указывает на блокирование эпитопа (конкурент или блокирование лиганда).

Кинетический анализ MSD-SET

Измерения равновесной аффинности проводили, как описано ранее (Estep et al., 2013). Равновесные титрования в растворе (SET) проводили в PBS+0,1% BSA без IgG (PBSF) с поддержанием постоянного параметра антигена при 10-100 пМ и инкубировали с 3-5-кратными серийными разведениями антител, начиная с 5-100 нМ (экспериментальное условие зависит от образца). Антитела (20 нМ в PBS) наносили на стандартные планшеты для связывания MSD-ECL в течение ночи при 4°C или при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем планшеты блокировали в течение 30 мин при встряхивании при 700 об./мин, после чего трижды промывали промывочным буфером (PBSF+0,05% Tween 20). Образцы SET наносили и инкубировали на планшетах в течение 150 с при встряхивании при 700 об./мин с последующей однократной промывкой. Антиген, захваченный на планшете, выявляли sulfotag-меченым стрептавидином в концентрации 250 нг/мл в PBSF путем инкубации на планшете в течение 3 мин. Планшеты трижды промывали промывочным буфером и затем считывали на приборе MSD Sector Imager 2400 с использованием 1х буфера Т для считывания с поверхностно-активным веществом. Процентное содержа-

ние свободного антигена наносили на график в зависимости от титрованного антитела в Prism и приводили к квадратному уравнению для получения K_D . Для повышения производительности в ходе экспериментов MSD-SET, включая подготовку образцов SET, применяли автоматизированные устройства для манипуляций с жидкостями.

Анализы клеточного связывания

Примерно 100000 клеток со сверхэкспрессией антигена промывали промывочным буфером и инкубировали с 100 мкл 100 нМ IgG в течение 5 минут при комнатной температуре. Затем клетки дважды промывали промывочным буфером и инкубировали с 100 мкл 1:100 Human-PE в течение 15 минут на льду. Затем клетки дважды промывали промывочным буфером и анализировали на анализаторе FACS Canto II (BD Biosciences).

Результаты

Клетки дрожжей, экспрессирующие библиотеку человеческих антител на своей поверхности, подвергали скринингу на связывание с CD73 человека. Два антитела из эпипопного бина 4, 918 и 930, хорошо связывались с CD73 и ингибировали ферментативную активность CD73 (данные не показаны). Эти два антитела подвергали созреванию аффинности, что привело к образованию двух линий родственных антител, обозначенных как линия 1 и линия 3 соответственно (табл. 19). Обеспечивали экспрессию этих антител к CD73 в трех разных форматах: антитела IgG1 (обозначенные как конструкции.C, например, 350.C), антитела IgG4, содержащие мутацию S228P в области Fc (IgG4 S228P, обозначенные как конструкции.A, например, 350.A), или антитела IgG4, содержащие мутации S228P и L235E в области Fc (IgG4 S228P/L235E, обозначенные как конструкции.B, например, 350.B), пронумерованные в соответствии с нумерацией Eu. Последовательности этих антител раскрыты в табл. 1. Для антитела 350.A получали две партии антител, которые в дальнейшем обозначены как 350.A1 и 350.A2.

Таблица 19

Две линии антител к CD73

Линия 1	Антитело	Формат IgG1	Формат IgG4 S228P	Формат IgG4 S228P/L235E
Исходное	918	918.C	918.A	918.B
Дочернее	350	350.C	350.A1, 350.A2	350.B
Дочернее	356	356.C	356.A	356.B
Дочернее	358	358.C	358.A	358.B
Линия 3	Антитело	Формат IgG1	Формат IgG4 S228P	Формат IgG4 S228P/L235E
Исходное	930	930.C	930.A	930.B
Дочернее	373	373.C	373.A	373.B
Дочернее	374	374.C	374.A	374.B
Дочернее	376	376.C	376.A	376.B
Дочернее	377	377.C	377.A	377.B
Дочернее	379	379.C	379.A	379.B

Все исследованные антитела к CD73 связываются с CD73 человека и макака-крабоеда. Антитела линии 1 также связываются с CD73 мыши. В табл. 20 приведены значения K_D этих антител, измеренные с применением Octet, как описано выше.

Таблица 20
Значения аффинности антител к CD73

mAb	Kd (M) суммарных IgG человека, ForteBio	Kd (M) суммарных IgG макака-крабоеда, ForteBio	Kd (M) суммарных IgG мыши, ForteBio
918.C	1,53E-09	Нет данных	8,88E-09
350.C	2,48E-10*	6,35E-10	4,09E-10*
356.C	2,43E-10*	6,93E-10	4,01E-10
358.C	3,17E-10	8,14E-10	3,51E-09
930.C	1,83E-09	Нет данных	Нет связывания
373.C	6,21E-10	9,14E-10	Нет связывания
374.C	3,58E-10	1,03E-10	Нет связывания
376.C	3,01E-10	Нет данных	Нет связывания
377.C	5,72E-10	1,42E-09	Нет связывания
379.C	5,50E-10	1,62E-09	Нет связывания

*Значение приближается к верхнему пределу измерений K_D

Затем, с применением исследований эпитопспецифической сортировки/блокирования лиганда показали, что исходное антитело 918 конкурирует за связывание с CD73 с дочерними антителами 350, 356 и 358. Аналогично, исходное антитело 930 конкурировало за связывание с CD73 с дочерними антителами 373, 374, 376, 377 и 379. Было показано, что и 918, и 930 конкурируют с внутренним эталонным антителом к CD73, что позволяет предположить, что эти антитела относятся к одному и тому же эпитопному бину.

Измерение аффинности Fab и антител с применением поверхностного плазмонного резонанса

Fab mAb 350 и 373 получали путем конструирования стоп-кодона между двумя остатками пролина над коровой шарнирной областью тяжелой цепи 350 и 373. Оба экспрессировали в клетках Expi293F (ThermoFisher) и очищали с использованием аффинной смолы CaptureSelect IgG CH1 (ThermoFisher).

Вiacore применяли для измерения межвидовой аффинности к Fab-материалам mAb 350 и 373. Используемые белки были следующими: рекомбинантный CD73 человека (R&D Systems 5795-EN); рекомбинантный CD73 макака-крабоеда (Sino Biological 90912-C08H); рекомбинантный CD73 мыши (R&D Systems 4488-EN) и рекомбинантный CD73 крысы (Sino Biological 80375-R08H). Антитело к Fab человека (GE Healthcare Life Sciences) иммобилизовали на всех 4 проточных ячейках (Fc) на чипе CM5 (GE). Fab 350 и 373 захватывали на Fc2 и Fc4 при ~20 RU. От 0,01 нМ до 90 нМ CD73 (серия 3-кратных разведений) проходили через все 4 Fc. Все образцы разбавляли в рабочем буфере HBS-EP+ (pH 7,4, 0,01 M HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA и 0,05% (об./об.) P20).

В табл. 21 показаны результаты в отношении аффинности K_d (M) для межвидового перекрестного связывания Fab 350 и 373.

Таблица 21
Значения аффинности Fab к CD73

Fab	Антиген	K_d (M)
Fab 350	hCD73	$\leq 1E-10$
Fab 350	cCD73	$\leq 1E-10$
Fab 350	mCD73	1,728E-8
Fab 350	rCD73	2,829E-8
Fab 373	hCD73	1,304E-8
Fab 373	cCD73	9,465E-9
Fab 373	mCD73	Нет связывания
Fab 373	rCD73	Нет связывания

В отдельном исследовании аффинность полноразмерного антитела 373.A или фрагментов Fab 373.A к CD73 человека, макака-крабоеда, мыши и крысы определяли с применением способа Вiacore для захвата антител к гистидину (His) с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Ab к His непосредственно иммобилизовывали на поверхности чипа CM5 с помощью иммобилизации по аминокгруппе.

Меченый His CD73/His человека, CD73/His макака-крабоеда, CD73/His мыши или CD73/His крысы протекал и захватывался при желаемой резонансной единице (RU) для R_{max} 20. Концентрации аналитов антител в серийных разведениях IgG или Fab протекали со скоростью 60 мкл/мин. Сенсограммы анализировали с применением программного обеспечения производителя для модели связывания 1:1. Связывание с белком CD73/His мыши и белком CD73/His крысы не было обнаружено для Fab 373.A и 373.A, что демонстрирует, что 373.A не является перекрестно реагирующим для грызунов.

Установили аффинность для CD73 человека и макака-крабоеда для Fab как 373.A, так и 373.A. Исследования с помощью масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена и эксклюзионной хроматографии подтверждают модель конформационного захвата димера CD73 с помощью 373.A в открытую/открытую (неактивную-неактивную) конформацию, поддерживая бидентатное связывание димера 1 Ab:1 CD73 в соотношении 1:1 (см. пример 2). Поэтому, учитывая, что бидентатное связывание 1:1 будет благоприятствовать авидности, применяли суммарные показатели аффинности к Ab, а не измерения Fab. Полноразмерное антитело 373.A связывает рекомбинантный CD73 человека с K_d $0,991 \pm 0,267$ нМ и перекрестно реагирует с рекомбинантным CD73 макака-крабоеда с K_d $0,068 \pm 0,009$ нМ, как определено в исследованиях кинетического связывания Biacore.

Связывание антител к CD73 с мишенью в цельной крови

Связывание с мишенью в цельной крови оценивали с помощью проточной цитометрии с использованием цельной крови от здоровых доноров. Вкратце, биотинилированные антитела инкубировали с цельной кровью в течение 30 минут до лизиса и фиксации красных кровяных клеток. Фиксированные клетки окрашивали в отношении CD3 и CD8 для идентификации CD8⁺ Т-клеток и стрептавидином-APC для обнаружения биотина. После окрашивания клетки промывали и подвергали анализу с помощью проточной цитометрии.

Зависимое от дозы связывание, измеренное по средней интенсивности флуоресценции (MFI) сигнала APC, наблюдали для исследуемых антител к CD73 (фиг. 1). Биотинилированное контрольное изотипическое антитело не проявляло связывания с CD8⁺ Т-клетками (фиг. 1).

Занятость мишени CD73 в образцах цельной крови человека

Концептуальную демонстрацию занятости мишени (ТО) CD73 в образцах цельной крови человека проводили путем обработки донорской крови *ex vivo* немеченым 373.A. Проводили титрование контрольного изотипического 373.A или DNP-IgG4sm от 10 мкг/мл до 0,17 нг/мл. Как показано на фиг. 24A, образцы от двух доноров, которые подвергали обработке немеченым 373.A в более высоких дозах (от 10 мкг/мл до ~0,1 мкг/мл), предотвращали связывание биотинилированного 373.A с клетками, уменьшая среднюю геометрическую интенсивность флуоресценции (gMFI) до плато при фоновом уровне флуоресценции (~550 gMFI для обоих доноров). Это свидетельствует о полной занятости мишени CD73. Напротив, значения gMFI для клеток, которые были предварительно обработаны более низкими количествами немеченого 373.A (0,17 нг/мл и 0,51 нг/мл), были аналогичны образцам, которые были предварительно обработаны контрольным изотипическим DNP-IgG4sm (~1600 gMFI для донора 1 и ~2200 gMFI для донора 2). Образцы, обработанные контрольным изотипом, напоминали кровь, которая имела нулевую занятость мишени. Полученные в результате значения % ТО показаны на фиг. 24B.

Ингибирование ферментативной активности растворимого рекомбинантного CD73

5'-эктонуклеотидаза CD73 представляет собой стадию, ограничивающую скорость превращения AMP в аденозин. Способность антитела к CD73 ингибировать ферментативную активность CD73 измеряли с применением количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым. Вкратце, 25 нг/мл рекомбинантного CD73 человека инкубировали с титрованием дозы субстратного аденозинмонофосфата (AMP) (0-500 мкМ) одним буфером или в присутствии контрольного изотипического антитела в концентрации 1 мкг/мл или антитела к CD73 антитела 350.C в концентрации 1, 0,3 или 0,1 мкг/мл. Высвобождение неорганического фосфата (Pi) измеряли с применением набора количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым (Enzo Life Sciences, каталожный № BML-AK111).

Как показано на фиг. 2A, контрольное антитело в исследуемой концентрации не влияло на константу Михаэлиса (K_m) рекомбинантного CD73 человека. Напротив, антитело к CD73 350.C вызывало дозозависимое снижение V_{max} на кривых K_m (фиг. 2B), что указывает на то, что антитело 350.C является неконкурентным ингибитором CD73 человека.

Затем антитела к CD73, 350, 356, 373 и 374, выраженные в формате А или В, исследовали на их способность ингибировать ферментативную активность рекомбинантного CD73 человека и макака-крабоеда с применением аналогичного количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым, как описано выше. Вкратце, антитела к CD73 инкубировали в течение 10 мин с 25 нг/мл рекомбинантного CD73 человека или макака-крабоеда в присутствии 25 мкМ AMP. Высвобождение неорганического фосфата (Pi) измеряли с использованием набора для количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым (Enzo Life Sciences, каталожный № BML-AK111). Нормализованный процент ингибирования (% INH) определяли с применением контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

Как показано на фиг. 3A-3C, все исследуемые антитела к CD73 ингибировали ферментативную ак-

тивность растворимого рекомбинантного CD73 человека и макака-крабеда.

Ингибирование ферментативной активности растворимого эндогенного CD13

Кроме того, ингибирование ферментативной активности антител к CD73 исследовали в отношении растворимого эндогенного CD73, например, CD73, выделенного с поверхности клетки.

В первом исследовании антитела к CD73 350 и 373, выраженные в формате А или В, или контрольные изотипические антитела инкубировали в течение 240 минут с MDA-MB-231 (линия клеток рака молочной железы человека) в среде без сыворотки в присутствии 100 мкМ AMP. Исчезновение AMP измеряли с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG) (Promega, кат. № G9242/3). AMP ингибирует сигнал люциферазы в наборе CTG. Сигнал люциферазы увеличивается, когда добавленный AMP ферментативно потребляется CD73. Нормализованный процент ингибирования (% INH) определяли с применением контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

Как показано на фиг. 4, антитела к CD73 дозозависимо ингибировали ферментативную активность CD73, выделенного из линии клеток рака молочной железы MDA-MB-231.

Во втором исследовании антитела к CD73 350, 356, 358, 373, 374, 377 и 379, все выраженные в формате В, инкубировали в течение 60 минут с разведенной (12,5% об./об. в PBS) сывороткой от пациента с раком поджелудочной железы в присутствии 100 мкМ AMP. Как и в первом исследовании, исчезновение AMP измеряли с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG) и определяли нормализованное процентное ингибирование (% INH) с использованием контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

Антитела к CD73 также подавляли ферментативную активность CD73 в сыворотке от пациента с раком поджелудочной железы в дозозависимым образом (фиг. 5).

Ингибирование ферментативной активности CD73, экспрессируемого на поверхности клеток

Во-первых, для оценки способности антител к CD73 350, 356, 358, 373, 374, 377 и 379 (все в формате В) ингибировать CD73, экспрессируемый в клеточной линии рака молочной железы. MDA-MB-231, применяли количественное определение фосфата по реакции с малахитовым зеленым. Вкратце, антитела инкубировали в течение 180 минут с клетками в присутствии 100 мкМ AMP. Высвобождение неорганического фосфата из AMP измеряли с использованием набора для количественного определения фосфата по реакции с малахитовым зеленым (Enzo Life Sciences, каталожный № BML-AK111). Нормализованный процент ингибирования (% INH) определяли с применением контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

Как показано на фиг. 6, все исследованные антитела к CD73 ингибировали ферментативную активность CD73, экспрессируемых на поверхности клеток линии рака молочной железы MDA-MB-231.

Затем, поскольку антитела линии 1 перекрестно реагируют с CD73 мыши, тогда как антитела линии 3 этого не делают, антитела обеих линий исследовали в отношении CD73, экспрессируемого на поверхности клеток линии рака молочной железы человека или мыши. Антитела к CD73 инкубировали в течение 240 минут с клеточной линией рака молочной железы человека MDA-MB-231 или клеточной линией рака молочной железы 4T1 в присутствии 100 мкМ AMP. Исчезновение AMP измеряли с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), описанного выше, и определяли нормализованное процентное ингибирование (% INH) с применением контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

В соответствии с их профилями связывания, антитела линии 1 918, 350, 356 и 358 ингибировали CD73 как человека, так и мыши (фиг. 7А и 7В), тогда как антитела линии 3 930, 373, 374, 376, 377 и 379 ингибировали CD73 человека, но не мыши (фиг. 7С и 7D).

Кроме того, проводили два модифицированных анализа Cell Titer Glo (CTG) для проверки ингибирования ферментативной активности антителами к CD73 в отношении CD73, экспрессируемого в линии клеток рака молочной железы человека MDA-MB-231 или линии клеток рака яичника человека SKOV3. В обоих исследованиях 1000 нг/мл антител к CD73 инкубировали в течение 240 минут с 20000 клеток/мл клеток в присутствии 100 мкМ AMP при 37°C. Исчезновение AMP измеряли с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), описанного выше, и определяли нормализованное процентное ингибирование (% INH) с применением контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

В обоих исследованиях все исследуемые антитела к CD73 были способны ингибировать поверхностный CD73, экспрессируемый в линии клеток рака молочной железы человека MDA-MB-231 или линии клеток рака яичника человека SKOV3 (фиг. 8А, 8В, 9А и 9В).

Затем проводили аналогичный анализ Cell Titer Glo (CTG) для изучения способности антител к CD73 ингибировать CD73 человека, экспрессируемый в линии клеток НЕК 293. Вкратце, клеточную линию НЕК 293 конструировали с обеспечением стабильной сверхэкспрессии CD73 человека и инкубировали с антителами к CD73 в течение 150 минут в присутствии 100 мкМ AMP. Исчезновение AMP измеряли с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), описанного выше, и определяли нормализованное процентное ингибирование (% INH) с применением контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

Как показано на фиг. 10, антитела к CD73 350, 356, 373 и 374 в формате А или В ингибировали мембраносвязанный CD73 человека дозозависимым образом.

Кроме того, ингибирование ферментативной активности антителами к CD73 также исследовали с использованием РВМС человека. Вкратце, первичные РВМС человека выделяли у двух отдельных доноров и инкубировали с антителами к CD73 в течение 480 минут в присутствии 25 мкМ AMP. Исчезновение AMP измеряли с помощью модифицированного анализа Cell Titer Glo (CTG), описанного выше, и определяли нормализованное процентное ингибирование (% INH) с применением контроля в нулевой момент времени как 100% INH и отсутствия контрольных антител как 0% INH.

Как показано на фиг. 11А и 11В, исследуемые антитела к CD73 ингибировали ферментативную активность CD73, экспрессируемого на первичных РВМС человека от обоих доноров.

Восстановление пролиферации Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺ в присутствии AMP

Затем антитела к CD73 исследовали в отношении их способности ослаблять опосредованное AMP подавление Т-клеток CD4⁺. Вкратце, Т-клетки CD4⁺ выделяли из объединенных мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) здорового донора-человека. Перед стимуляцией гранулами к CD3/28 в присутствии 800 мкМ AMP Т-клетки CD4⁺ окрашивали CellTrace Violet (CTV) (Thermo Fisher Scientific, кат. № С34557) для отслеживания деления клеток. На 4 день пролиферацию определяли разведением CTV с применением проточной цитометрии. Клетки, окрашенные CTV, теряют примерно половину своего флуоресцентного сигнала, измеренного на проточном цитометре, с каждым делением. Индекс пролиферации рассчитывали как меру уровня деления Т-клеток для каждого условия, где 100 представляет максимальную пролиферацию, а 0 - отсутствие пролиферации.

Как показано на фиг. 12А и 12В, все исследуемые антитела к CD73 были способны восстанавливать пролиферацию Т-клеток CD4⁺ в присутствии AMP.

В отдельном исследовании исследовали Т-клетки как CD4⁺, так и CD8⁺. Вкратце, Т-клетки CD4⁺ и CD8⁺ очищали из мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС), выделенных от здоровых доноров-людей и метили сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеина (CFSE). Меченные CFSE Т-клетки CD4⁺ или CD8⁺ активировали в течение 4 дней активирующими Т-клетки гранулами к CD3/CD28 (1 гранула/16 клеток) в присутствии 800 мкМ AMP и с помощью серийных разведений контрольного изотипа hIgG4 или 373.А. Для Т-клеток CD4⁺ (фиг. 25А) и Т-клеток CD8⁺ (фиг. 25В) показаны репрезентативные данные, в каждом случае от трех доноров. Данные представлены в виде процента пролиферации Т-клеток CD4⁺ (фиг. 25А) или CD8⁺ (фиг. 25В), где изотипический контроль демонстрирует, что максимальная пролиферация подавляется в присутствии AMP, а присутствие 373.А восстанавливает пролиферацию дозозависимым образом. Хотя величина ответа варьируется у разных доноров, у всех трех доноров Т-клеток CD4⁺, представленных на (фиг. 25А), и у 2/3 доноров, показанных для Т-клеток CD8⁺ (фиг. 25В), 373. А демонстрирует активность *in vitro* в восстановлении пролиферации Т-клеток.

Ингибирование ферментативной активности CD73 *in vivo*

Кроме того, антитела к CD73 исследовали в отношении их ингибирования ферментативной активности *in vivo*. Самкам бестимусных "голых" мышей (в возрасте 6-8 недель) имплантировали клеточную линию рака молочной железы MDA-MB231 с высокой экспрессией CD73 (ATCC HTB-26) в количестве 10×10^6 клеток/мышь/200 мкл. Рандомизировали по пять мышей на группу, когда опухоли составляли 200 мм³, и внутрибрюшинно вводили либо 20, либо 200 мкг/мышь контрольного поликлонального человеческого IgG или панель mAb к CD73. Исследуемые антитела представляют собой антитела к CD73 350, 356, 373 и 374, экспрессируемые в формате А или В.

Плазму собирали через три дня после введения дозы при соотношении одной порции плазмы к пяти порциям метанола по объему. Гашенные метанолом образцы хранили перед использованием при -80°C, после чего образцы центрифугировали. Осадки отбрасывали и супернатанты переносили в новые пробирки Эппендорфа. Исходные растворы внутренних стандартов (IS, меченный С-13 аденозин и меченный N-15 инозин, Cambridge Isotope Laboratories, Массачусетс) добавляли до конечной концентрации 50 нМ. Подготовленные образцы затем анализировали с использованием системы LC/MS API-6500 QTrap (AB Sciex, США) с насосом Shimadzu LC (LC-20AD) и автоматическим пробоотборником CTC с промывкой DLW. Для каждого образца 5 мкл впрыскивали и разделяли с применением колонки SeQuant ZIC-pHILIC (5 мкм, 150×2,1 мм, Millipore, Массачусетс), поддерживаемой при 40°C. Для элюирования использовали бинарный градиент, где подвижная фаза В представляет собой 100% ацетонитрил без добавок, а подвижная фаза А представляет собой 12 мМ формиата аммония и 12 мМ муравьиной кислоты в смеси воды и ацетонитрила 1:1 (об./об.). Элюирование программировали как (0, 85, 0,6), (0,5, 85, 0,4), (2, 10, 0,4), (4,5, 10, 0,4), (5, 85, 0,4), (5,5, 85, 0,6), где значения в скобках представляют собой время в минутах, процент подвижной фазы В и скорость потока в мл/мин, по порядку. Аденозин и С13-аденозин контролировали от 0,5 до 4,5 минуты при ESI-положительном режиме и массовых переходах 268->136 и 273->136 соответственно. Инозин и N15-инозин контролировали от 0,5 до 4,5 минуты при ESI-отрицательном режиме и массовых переходах 267->135 и 271->139 соответственно. Результаты были представлены в виде нМ аденозина или инозина.

Все исследуемые антитела к CD73 эффективно снижали накопление аденозина и инозина в сыво-

ротке мышей с иммунной недостаточностью, которым имплантировали линию клеток рака молочной железы MDA-MB231 с высокой экспрессией CD73 (фиг. 13).

Пример 2. Определение эпитопа и способа связывания антител к CD73

В этом примере эпитоп и способ связывания антител к CD73 350.A2, 350.B, 373.A и 373.B определяли путем амидного фрагментационного водородно/дейтериевого обмена (HDx) и эксклюзионной хроматографии (SEC).

Способы

Фрагментационная масс-спектрометрия водородно-дейтериевого обмена (HDx-MS)

Эксперименты HDx-MS выполняли, как описано ранее (Park IH, et al., *J. Chem. Inf. Model.*; 55(9): 1914-1925 (2015); Chalmers MJ, et al., *Anal. Chem.*; 78(4): 1005-14 (2006)). Комплексы антитело-антиген получали и использовали в молярном соотношении 1:1 при инкубации в течение ночи при 4°C. Важно отметить, что это означает, что в комплексных смесях имеется 2-кратный избыток сайтов связывания Fab.

Эксперименты по обмену при комнатной температуре проводили путем ручного добавления 50 мкл буфера для обмена (50 мМ фосфат, 150 мМ NaCl, pH 7,1, в D₂O) к 10 мкл белка 0,5 мг/мл rhCD73 (R&D systems, каталожный № 5795, Trp27-Lys547 AAN65937, слитый с C-концевой 6-His-меткой (SEQ ID NO: 922)) или молярно-эквивалентного количества комплекса CD73-mAb (50 мМ фосфат, 150 мМ NaCl, pH 7,1). Образцы гасили после 60 с замены при комнатной температуре путем добавления 250 мкл буфера для гашения (4М гидрохлорид гуанидиния, 0,5 М Tris(2-карбокситил)фосфин гидрохлорид (TCEP-HCl), 0,2 М фосфат, pH 2,5, 0°C) и через 30 с дополнительно разбавляли 300 мкл ледяного буфера для хранения (20% глицерина, 0,25% муравьиной кислоты в воде) перед мгновенным замораживанием жидким азотом и хранением при -80°C до использования или переноса в выдвижной ящик при -70°C, прикрепленный к рельсам жидкостного манипулятора (PAL HTS, LEAP Technologies, Каррборо, Северная Каролина), расположенный внутри корпуса с температурой 0°C. Замороженные образцы оттаивали в течение 120 с, пропускавая газ N₂ через сосуд для образца (облегчали с помощью жидкостного манипулятора в сочетании с приспособлением для оттаивания) и загружали в пробоотборную петлю впрыскивающего клапана (Valco, Хьюстон, Техас). Загрузку образцов (загрузочный буфер 0,05% трифторуксусной кислоты (TFA), 500 мкл/мин.) в предварительную колонку хроматографической системы и онлайн-расщепление пепсина (иммобилизованный пепсин на Poros AL20, 2,1×150 мм, выдерживали при 15°C) выполняли с помощью двойной насосной системы (2х, Accela 1250, Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс), которая позволяла смешивать второй поток 550 мкл/мин. (0,05% TFA, 500 мкл/мин.) после загрузки буфера после расщепления через тройник для смешивания. Объединенный поток направляли в хроматографическую систему, поддерживаемую при 0°C, для обессоливания и градиентного разделения LC со скоростью потока 15 мкл/мин. (Dionex UltiMate 3000, Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс) и одновременным масс-спектрометрическим анализом (QExactive, Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс) хроматографических потоков. Хроматографическая система состояла из клапана (15 кПа, Valco, Хьюстон, Техас), картриджа с обращенной фазой 4 мкл EXP Halo C18 (Optimize Technologies Inc., Орегон-Сити, Орегон) и аналитической колонки (ID 2,1×10 мм, прозап 1,5 мкм C18, Grace). Градиентное разделение составляло от 0 до 40% В в течение 20 минут, а затем от 40 до 75% В в течение 5 мин. с использованием буферных композиций А: 99,75:0,25% об./об. (H₂O: муравьиная кислота) и В: 99,75:0,25% об./об. (ацетонитрил:муравьиная кислота).

Сканирования MS получали с разрешением 70000 в диапазоне m/z 350-2000 для MS и 35000 для MS/MS. Параметры прибора, применяемые для всех экспериментов, включая напряжение распыления 2,5 кВ, максимальное время впрыска 120 мс, мишень AGC для MS 500000 ионов, оставались одинаковыми для всех прогонов. Образцы анализировали в трех повторностях.

Идентификацию пептидов проводили путем преобразования необработанных данных в формат.mgf с помощью Proteome Discoverer 1.4, поиска в отношении последовательности конструкций с применением MASCOT 2.4 (Matrix Science, Лондон, Великобритания) и фильтрации с применением Scaffold 1.4. Отфильтрованные результаты импортировали в HDExaminer (v1.3, Sierra Analytics, Модесто, Калифорния) вместе с файлами необработанных данных для количественного определения дейтерирования. Значения дейтерирования экспортировали в Microsoft Excel для расчета различий дейтерирования и нормализации включения дейтерия по количеству наблюдаемых амидных групп (количество остатков минус 2, дополнительно вычитая количество остатков пролина в последовательности, исключая N-конец и предпоследние остатки) в пептиде. Для сокращения данных о разнице пептидов в последовательности нормализованные значения дейтерирования разности усредняли для каждого первичного остатка последовательности согласно наблюдениям за пептидами, в которых наблюдалась соответствующая амидная группа.

Воду, оксид дейтерия, гуанидингидрохлорид, хлорид натрия, глицерин, муравьиная кислота, трифторуксусная кислота (TFA), трифторэтанол (TFE), ацетонитрил (ACN) брали от Sigma Chemical Company (Сент-Луис, Миссури). Tris-(2-КарбоКромн) фосфин) TCEP брали от Gold Biotechnology Inc (Сент-Луис, Миссури).

Эксклюзионная хроматография (SEC)

Эквиволярное количество rhCD73 (3,2 мкл, 1,6 мг/мл) смешивали с mAb (2,6 мкл, 5 мг/мл) и обеспечивали образование комплекса в течение ночи при 4°C. Образцы обрабатывали с применением автоматического пробоотборника Agilent, подключенного к насосу Agilent серии 1200 с УФ-детектором Agilent. Систему контролировали с помощью программного обеспечения Agilent Chemstation. В качестве колонки использовали колонку Shodex Protein KW-803 (ID 8 × 300 мм). Подвижная фаза: 90% 2х PBS, 10% изопропанола по объему. Скорость потока: 500 мкл/мин. Объем вводимой пробы: 8 мкл. Длина волны обнаружения: 220 нм. Время анализа: 30 мин.

Комплексы антитело-антиген получали и использовали в соотношении 1:1 с применением предоставленных значений концентрации при инкубации в течение ночи при 4°C. Важно отметить, что это означает, что в комплексных смесях имеется номинально 2-кратный избыток сайтов связывания Fab.

Структурные данные

Структурные данные, применяемые для интерпретации, получали из базы данных структуры белков (www.rcsb.org), и они состояли из записей 4H2F, 4H2I и 4H1S. Выравнивания различных моделей и визуализацию выполняли с помощью PyMOL (система молекулярной графики PyMOL, версия 1.8 Schrödinger, LLC).

Результаты

Данные по водородному обмену

Профили защиты HDx MS 373.A и 373.B, как показано на фиг. 14, перекрываются по всей последовательности CD73. Это демонстрирует эквивалентность антител с точки зрения их эпитопа.

Профили защиты HDx MS 350.A2 и 350.B, как показано на фиг. 15, находятся в хорошей согласованности друг с другом по всей последовательности CD73. Это демонстрирует эквивалентность антител с точки зрения их эпитопа.

Последовательности, в которых наблюдается самая сильная защита, обозначены на фигурах и в основном соответствуют областям петли CD73. Их относительное пространственное расположение изображено в моделях структуры, показанных на фиг. 16A и 16B. В то время как защита, наблюдаемая для последовательностей A-, B- и D-петли, обусловлена взаимодействиями антитело-CD73, защитные эффекты, наблюдаемые для последовательности, аннотированной как C-петля, вероятно, возникают ввиду конформационной блокировки. C-петля свернута в открытой/неактивной конформации CD73 и развернута в закрытой/активной конформации (фиг. 16A). Растворимый, а также мембраносвязанный CD73 образует димер посредством C-концевых доменов (фиг. 16B). Равновесие между открытой и закрытой конформациями существует, когда N-концевой домен поворачивается на приблизительно 90 градусов для преобразования из открытой в закрытую форму. C-петля отображает это равновесие. Если после связывания антитела с CD73 равновесие смещается больше в сторону открытой конформации, большая часть C-петель будет свернута, что является защищенным состоянием. С другой стороны, если равновесие больше смещено в сторону закрытой конформации при связывании антитела с CD73, тогда ожидается снятие защиты. Необычайно сильная защита, наблюдаемая для 373.A и 373.B в C-петле (фиг. 14), позволяет предположить, что они наиболее эффективны для поддержания CD73 в неактивной конформации и/или делают это с помощью другого механизма.

Из профилей можно сделать вывод, что максимально защищенные последовательности имеют диапазон остатков 158-172, YLPYKVLPGDEVVG (SEQ ID NO: 108), обозначенных как A-петля, диапазон остатков 206-215, KCLKTLNVNKI (SEQ ID NO: 109), обозначенных как B-петля, и диапазон остатков 368-387, MINNNLRHADETFWNHVS MC (SEQ ID NO: 110) обозначенных как C-петля на всех фигурах, пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105.

Для антител 373.A и 373.B остатки в областях A- и B-петли, по-видимому, одинаково важны для эпитопа, на что указывают сопоставимые уровни защиты, наблюдаемые на фиг. 14. В случае антител 350.A2 и 350.B в основном остатки A-петли, по-видимому, важны для эпитопа, даже если наблюдается некоторая защита B-петли, но неясно, следует ли это интерпретировать как прямое взаимодействие антитела с остатками в этом диапазоне или это просто косвенный эффект из-за близости к A-петле.

Данные исключения по размеру

Данные исключения по размеру хорошо коррелируют с данными HDx, рассмотренными выше. Эквивалентность антител 373.A и 373.B проявляется в сходстве их профилей эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC), которое отражает распределение состояния олигомеризации (фиг. 17A и 17B). Та же оценка имеет место для антител 350.A2 и 350.B (фиг. 18A и 18B).

Характеристики около 17 мин соответствуют димеру CD73 и свободному антителу в соответствии со шкалой молекулярной массы, основанной на калибрантах, которые приведены для справки. Характеристика приблизительно 14,8 мин или приблизительно 300 кДа согласуется с комплексом димер CD73/mAb. Через около 12,4 мин наблюдают характеристику около 600 кДа, соответствующей композиции из двух димеров CD73+2 mAb (2х димер CD73 /2х mAb). На дополнительные характеристики свыше 600 кДа влияет предел исключения для столбца. Тем не менее, они могут быть отнесены к более высоким олигомерным состояниям, что означает комплексы, состоящие из 3 или более димеров CD73 в дополне-

ние к 3 или более mAb ($3^+ \times \text{CD73}$ димер/ $3^+ \times \text{mAb}$).

Доминирующие виды в профилях CD73-373.A и CD73-373.B, показанные на фиг. 17A и 17B, представляют собой комплекс димер CD73/mAb. Наблюдается лишь незначительное количество видов 2x димер CD73/2x mAb. Это согласуется с предпочтительным бидентатным способом связывания одного антитела с димером CD73.

Профили SEC для CD73-350.A2 и CD73-350.B, показанные на фиг. 18A и 18B, показывают сопоставимые содержания для видов димер CD73/mAb и видов 2x димер CD73/2x mAb. Плечо при более коротком времени элюирования указывает на присутствие некоторого количества высших олигомеров. Это показывает, что 350.A2 и 350.B способны связывать CD73, подобно 373.A и 373.B, бидентатным образом, но этот режим не обязательно является термодинамически предпочтительным, по меньшей мере при высоких концентрациях, применяемых в эксперименте.

Показатели процентного содержания антител к CD73, которые образовывали комплекс 1x димер CD73/1x mAb, комплекс 2x димер CD73/2x mAb или высший олигомер, оценивали путем интеграции профилей SEC по различающимся видам (фиг. 19). Нулевой базовый уровень применяли для всех интеграций с интервалами интеграции от 10,5 мин до 11,65 мин для высших олигомеров и от 11,65 мин до 13,5 мин для комплекса 2x димер CD73/2x mAb, последовательно применяемых для всех образцов. Интервалы интеграции для видов комплексов 1x димер CD73/1x mAb немного варьировались, и их выбирали как 13,5-16,2 мин для CD73-373.A, 13,5-16 мин для CD73-373.B, 13,5-15,75 мин для CD73-350. A2 и 13,5-15,75 мин для CD73-350.B, чтобы получить оптимальное отделение от сигнала свободного антитела, который не был интегрирован, так как он не имеет отношения к анализу (антитела использовали в псевдоизбытке, предусматривающем приблизительно двухкратное количество сайтов связывания Fab к сайтам связывания CD73, которые присутствовали в смесях комплексов).

Заключение и обсуждение

Приведенные выше данные HDx и SEC являются убедительным доказательством эквивалентности 373.A и 373.B, а также 350.A2 и 350.B с точки зрения их способа взаимодействия с CD73. Это ожидалось, учитывая, что единственное различие последовательностей между парами - это одиночная мутация (L235E для удаления остаточных взаимодействий FcR) в константной области.

Данные экспериментов HDx и SEC согласуются и полностью поддерживают модель, представленную на фиг. 20. Согласно модели, эпитопы для всех антител находятся на N-концевых доменах. Антитела 373.A и 373.B взаимодействуют с димером CD73, образуя почти исключительно гомогенные частицы, показанные слева на фиг. 20. У этого вида оба активных сайта димера CD73 заблокированы в неактивной конформации. Кроме того, в этой конформации оба N-концевых домена димера CD73 направлены от поверхности клетки в случае мембраносвязанного CD73, позволяя 373.A и 373.B ингибировать растворимые и мембраносвязанные варианты мишени с равной эффективностью.

Антитела 350.A2 и 350.B могут образовывать бидентатный гомогенный комплекс слева, но не демонстрируют предпочтения этой формы по сравнению с видами 2x димер CD73/2x mAb, показанными в центре фиг. 20. Также наблюдали высшие олигомерные виды, показанные справа на фиг. 20. Предположительно, распределение видов будет смещаться в сторону гомогенного бидентатного комплекса в случае мембраносвязанного CD73 или при низких концентрациях антител и антигена, что является вероятным сценарием *in vivo*. Предполагается, что антитела 350.A2 и 350.B способны эффективно ингибировать все формы CD73 посредством механизма блокировки неактивного сайта. Понятно, что даже в активной конформации мишень все еще может быть каталитически неактивной вследствие связывания антител ввиду других механизмов аллостерического ингибирования.

На основании модели можно ожидать, что антитело к CD73, которое преимущественно образует олигомерные виды, показанные в средней и правой части фиг. 20, будет менее эффективным в ингибировании растворимого и мембраносвязанного CD73, особенно при низких концентрациях. Причиной этого является то, что большая часть CD73 всегда будет в активной конформации, и даже если антитело может ингибировать катализ при таких обстоятельствах по косвенному механизму, любое отделение антитела немедленно приведет к каталитически активному CD73. Кроме того, поскольку общая концентрация антигена и антитела стремятся к нулю, две молекулы антитела потребуются для ингибирования одного димера CD73, тогда как для антител 373 и 350 одной молекулы все равно будет достаточно.

Краткое описание

Были определены предполагаемые сайты связывания антител 373.A, 373.B, 350.A2 и 350.B на rhCD73 и способы их взаимодействия с димером rhCD73. Эпитопы охарактеризованы как вероятно прерывистые и состоящие из остатков, находящихся в диапазонах последовательностей 158-172 YLPYK-VLPVGVDEVVVG (SEQ ID NO: 108) и 206-215 KLKTLNPNKI (SEQ ID NO: 109) из CD73 человека, пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105. Если рассмотреть модель, которая требует блокировки CD73 в неактивной конформации для ингибирования, то на основании экспериментальных наблюдений HDx MS и SEC можно было бы предсказать, что 373.A, 373.B, 350.A2 и 350.B способны ингибировать растворимые и мембраносвязанные формы CD73.

Пример 3. Активация CD73 в стромальных клетках после блокады TGF β *in vivo*

Об экспрессии CD73 при раке сообщалось не только в отношении раковых клеток, но и в отноше-

нии стромальных элементов, которые составляют микроокружение опухоли. Кроме того, было предположено несколько стромальных факторов, в том числе TGF β , для обеспечения потенциальных механизмов амплификации для образования аденозина в микроокружении ткани. В этом примере проводили исследование, чтобы определить, может ли блокада TGF β *in vivo* вызывать изменения в экспрессии CD73 в опухолевых стромальных клетках.

Для этой цели использовали гуманизированное моноклональное антитело IgG2, которое связывается с TGF β 1 и TGF β 2 человека и мыши с высокой аффинностью и с TGF β 3 с более низкой аффинностью. Было продемонстрировано, что это антитело обладает нейтрализующей активностью в отношении изоформ TGF β *in vitro* и *in vivo*. Иммунокомпетентным самкам мышей BALB/c (в возрасте 6-8 недель) имплантировали в правый бок клетки линии трижды негативного рака молочной железы мыши 4T1 при 10 ± 10^4 клеток/мышь/100 мкл. Десять мышей в группе обрабатывали внутривнутрибрюшинно через день либо пан-TGF β -блокирующим антителом, либо контрольным изотипом (hIgG2), оба в конечной концентрации 10 мг/кг массы тела. Рост опухолей обеспечивали в течение 14 дней, после чего животных подвергали эвтаназии, а опухоли собирали и подвергали анализу с помощью проточной цитометрии. Вкратце, опухоли у мышей вырезали и расщепляли с применением комбинации физической и ферментативной диссоциации (DNaseI, коллагеназа P, диспаза). Суспензии отдельных клеток Fc-блокировали в течение 30 минут для предотвращения неспецифического связывания антител и окрашивали посредством панели антител, которые связываются со специфическими маркерами клеточной поверхности, включая CD45 (для исключения гемопоэтических клеток), CD31 (эндотелиальные клетки), CD90 (пан-мезенхимальный маркер), CD26 и подоплантин, для идентификации популяций стромальных клеток. Экспрессию CD73 оценивали с использованием антитела к CD73, конъюгированного с eFluor450 (eBioscience № 48-0731-82) по сравнению с окрашенными образцами при изотипических контролях (конъюгированный с eFluor 450 IgG1 крысы, eBioscience № 48-4301-82). После окрашивания в течение 40 минут при 4°C образцы промывали буфером FACS (PBS, 5 mM EDTA, 2% фетальной бычьей сывороткой), фиксировали раствором Fix/Perm (eBioscience № 00-5523), следуя инструкции производителя, и анализировали на проточном цитометре BD LSRFortessa™. CD73 высоко экспрессировался в эндотелиальных клетках у мышей, обработанных изотипическим контролем, в то время как в мезенхимальных стромальных клетках обнаруживали минимальную экспрессию (CD26+ и CD26-CAF и перидитах) (фиг. 21A и 21B). Удивительно, что обработка мышей нейтрализующими TGF β антителами вызывала значительную активацию CD73 в фибробластах, ассоциированных с раком (CAF), независимо от экспрессии CD26 (фиг. 21A и 21B). Активация CD73 была также заметна в эндотелиальных клетках, хотя и в меньшей степени, тогда как активация не наблюдалась в перидитах (фиг. 21A и 21B). В целом, эти данные указывают на то, что нейтрализация TGF β в микроокружении опухоли вызывает экспрессию CD73 в стромальных клетках, что дает основание предполагать, что активация CD73 и продуцирование аденозина фибробластами опухоли может обеспечить альтернативный механизм, привлекаемый опухолями для поддержания иммунного покоя при блокаде TGF β .

Пример 4. Влияние антител к CD73 на В-клетки

Чтобы оценить, может ли блокада CD73-зависимого образования аденозина специфически подавлять класс-свич рекомбинацию (CSR) без влияния на эффективность ответа В-клеток, исследовали антитело к CD73 350.В. Интактные клетки В (CD19+CD27-IgM+IgD+) очищали из периферической крови двух здоровых доноров на основе экспрессии CD73 и стимулировали агонистом TLR9, антителом к CD40 и цитокинами (IL-2 и IL-21) в присутствии антитела 350.В. Исследовали три различные концентрации антитела, 1 нг/мл, 10 нг/мл и 100 нг/мл, наряду с изотипическим контрольным IgG4. Секретию IgM измеряли на 7 день в культуральных супернатантах, и никаких различий не наблюдалось по сравнению с контрольным изотипом (фиг. 22A). Примечательно, что ингибирование CD73-ферментативной активности при обработке 350.В приводило к снижению дифференцировки секреторирующих IgG клеток, измеренному с помощью анализа ELISPOT для обнаружения секреторирующих IgG плазматических клеток (планшеты Millipore MSIPS4510, покрытые 10 мкг/мл антитела козы к человеческому IgG (Southern Biotechnologies), с сильным эффектом при концентрации 100 нг/мл (фиг. 22C). Количество жизнеспособных клеток также оценивали, и никаких различий не наблюдалось (фиг. 22B), исключая связь между низкой выживаемостью и низкой эффективностью CSR, наблюдаемой в интактных В-клетках CD73+ после обработки 350.В. В качестве контроля интактные клетки CD73- стимулировали одинаково, и различий не наблюдалось (фиг. 22A-C). Наконец, оценка CSR в условиях изотипического контроля подтвердила повышенное количество ISC IgG в интактном компартменте CD73+ (фиг. 22C). Взятые вместе, эти результаты продемонстрировали, что блокада ферментативной активности CD73 оказывает влияние на класс-свич рекомбинацию без изменения ответа IgM.

Пример 5. Совместная блокада антителами к CD73 и антителами к PD-1 в сингенных мышинных моделях опухолей

Чтобы определить роль совместной блокады путей CD73 и PD-1 у мышей с опухолями, антитела к PD-1 и антитела к CD73 (350.В) вводили иммунокомпетентным мышам, инокулированным клетками сингенной линии карциномы толстой кишки CT-26. Мышей BALB/c в возрасте 6-10 недель инокулиро-

вали в бок с помощью 1×10^5 опухолевых клеток СТ-26. На 2 день после инокуляции мышей ($n=10$ на группу) обрабатывали внутрибрюшинно любым контрольным изотипическим антителом, 350.В, 600 мкг на 1 дозу, а затем 400 мкг на 4 дозы; антителом к PD-1, 300 мкг на 5 доз (низкая доза); антителом к PD-1, 600 мкг на 5 доз (высокая доза); комбинацией высоких доз антитела к PD-1+350.В; или комбинацией низких доз антитела к PD-1+350.В. Размеры опухоли и массу тела регистрировали три раза в неделю с промежутком между измерениями от 2 до 3 дней и каждое животное подвергали эвтаназии, когда размер опухоли достигал $> 2000 \text{ мм}^3$, когда мышья умирала или опухоль была изъязвлена. Процентное подавление роста опухоли рассчитывали через 25 дней (поскольку контрольную группу подвергали эвтаназии на 26 день).

Обработка с помощью 350.В или только низкими дозами антитела к PD-1 (300 мкг) показала частичное подавление роста опухоли (30,96% и 52,04% соответственно) на 25 день. Напротив, низкие дозы антитела к PD-1+350.В в комбинации приводили к 88,41% подавлению роста опухоли (фиг. 23). Контроль опухоли посредством высокой дозы антитела к PD-1 было достаточно, так что дополнительного преимущества при введении 350.В не наблюдалось. Никакой заметной потери в массе тела не наблюдалось ни в одной из групп, и не было никаких значимых клинических наблюдений в отношении животных в исследовании. Эти данные демонстрируют, что комбинированное лечение посредством субоптимальных доз антител к CD73 и антител к PD-1 может привести к усилению подавления роста опухоли в модели сингенной опухоли СТ-26.

Пример 6. Фармакокинетическое и токсикологическое исследование антитела к CD73 373.А у макаков-крабоедов

Как отдельное средство антитело к CD73 373.А хорошо переносилось при внутривенном введении раз в неделю в течение четырех недель макакам-крабоедам в дозах до 100 мг/кг. Не было никакого влияния на сердечную функцию, оцененную с помощью электрокардиограммы, и не было никакого значимого токсикологического воздействия на клиническую патологию, иммунофенотипирование или гистопатологические результаты. Следовательно, уровень, при котором не наблюдалось никаких неблагоприятных эффектов (NOAEL) для 373.А у макаков-крабоедов, составляет 100 мг/кг, тогда как самая высокая неопасная токсичная доза (HNSTD) составляет >100 мг/кг.

В токсикологическом исследовании однократных доз, не соответствующем требованиям GLP, макакам-крабоедам вводили однократные внутривенные дозы контроля, 3, 30 или 100 мг/кг антитела 373.А. После внутривенной инъекции уровень 373.А быстро снижался в группе 3 мг/кг, вероятно, по причине опосредованного мишенью распределения лекарственного средства. В группе 30 мг/кг и 100 мг/кг снижение было, как правило, многоэкспоненциальным. Половых различий в значениях C_{max} и $AUC_{0-168 \text{ ч}}$ не наблюдалось. Воздействие, оцененное по средним значениям C_{max} 373.А и $AUC_{0-168 \text{ ч}}$, увеличивалось с повышением уровней дозы от 3 до 100 мг/кг. Повышение средних значений C_{max} 373.А и $AUC_{0-168 \text{ ч}}$, как правило, было пропорционально дозе, за исключением $AUC_{0-168 \text{ ч}}$ между уровнями доз от 3 до 30 мг/кг. В когорте с дозой 100 мг/кг средние значения C_{max} и $AUC_{0-168 \text{ ч}}$ составляли 2540 мкг/мл и 173000 мкг·ч/мл соответственно. Возможное появление антител к лекарственному средству (ADA) в данном исследовании не влияло на PK.

В токсикологическом исследовании согласно GLP обезьянам вводили раз в неделю четыре IV дозы контроля, 10, 30 или 100 мг/кг 373.А. Половые различия в C_{max} и $AUC_{0-168 \text{ ч}}$ в случае 373.А были минимальными (в 0,7-1,2 раз). Воздействие, оцененное по среднему значению C_{max} и $AUC_{0-168 \text{ ч}}$, увеличивалось пропорционально с 10 до 100 мг/кг. После IV болюсной инъекции 373.А PK снижалась биэкспоненциальным образом, со средним значением $t_{1/2}$ фазы элиминации, равным 266 часам, после фазы восстановления на 22 день в группе 100 мг/кг. В когорте с дозой 100 мг/кг средние значения C_{max} и $AUC_{0-168 \text{ ч}}$ на 22 день составили 5030 мкг/мл и 365000 мкг·ч/мл соответственно. Возникновение ADA снижало уровень воздействия у одного животного в группе 30 мг/кг.

В отдельном исследовании высвобождение цитокинов оценивали в формате анализа растворимости *in vitro* после 24-часовой стимуляции цельной крови человека посредством 373.А при 50, 100, 500 и 1000 мкг/мл. Образцы крови собирали у десяти здоровых доноров. Для каждого образца были включены отрицательный (цельная кровь и цельная кровь со средой) и положительный (антитело к CD3 человека) контроли. Уровни цитокинов измеряли с помощью мультиплексного способа Lumiplex для IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ и TNF α . Результаты, полученные с применением контрольного буфера, были аналогичны результатам, полученным с применением отрицательного контроля (только кровь), и не было отмечено тенденции к снижению или увеличению высвобождения цитокинов при применении разбавителя (0,5% декстроза). Для всех доноров наблюдали индукцию высвобождения цитокинов в случае положительных контролей с антителом к CD3 для всех цитокинов, что указывало на то, что стимуляция была подходящей, и высвобождение цитокинов индуцировалось во всех образцах. Уровни цитокинов, полученные после стимуляции 373.А, были аналогичны уровням, измеренным в отрицательных контролях. В заключение, стимулирование *in vitro* цельной крови человека посредством 373.А не вызывало высвобождения цитокинов при концентрациях до 1000 мкг/мл.

Пример 7. Фаза I/Ib исследования антитела к CD73 антитела 373.А как отдельного средства и в

комбинации с VAP049-клоном-Е и/или PBF509 у пациентов со злокачественными новообразованиями на поздней стадии.

В течение последнего десятилетия иммунотерапия, нацеленная на различные контрольные точки иммунного ответа (например, PD-1, PD-L1 и CTLA-4), показала эффективность в случае ряда раковых состояний. Однако, в то время как некоторые пациенты достигают объективных и длительных ответов на блокаду контрольной точки, большинство пациентов демонстрируют небольшой или нулевой клинический ответ, что указывает на то, что опухоли используют альтернативные иммуносупрессивные механизмы для достижения иммунного ускользания (Allard et al., *Clin Cancer Res.* 2013; 19(20):5626-35; Vesely et al., *Annu Rev Immunol* 2011; 29:235-271). Таким образом, для индукции клинически значимых реакций у большего числа пациентов может потребоваться сопутствующая блокада множественных иммунодепрессивных путей.

В последние годы выработка аденозина и передача сигналов стали потенциальными терапевтическими мишенями при лечении рака. Аденозин создает иммуносупрессивное микроокружение опухоли за счет снижения цитотоксического противоопухолевого иммунного ответа, усиления пролиферации и поляризации иммуносупрессивных клеток и увеличения неоваскуляризации (Young et al., *Cancer Discovery* 2014; 4(8):879-88). Доклинические данные демонстрируют, что блокада CD73 может значительно задерживать рост первичной опухоли и подавлять развитие метастазов в легких в иммунокомпетентной сингенной мышинной модели (Stagg et al 2010). Аналогичные результаты наблюдались в исследовании, в котором генетическая делеция A2aR у хозяина приводила к отторжению введенных иммуногенных опухолей у мышей с дефицитом A2aR с отсутствием отторжения, наблюдаемого у контрольных мышей дикого типа (Ohta et al., *PNAS* 2006; 103(35): 13132-37).

Открытое многоцентровое исследование фазы I/II было разработано для оценки безопасности, переносимости, предварительной противоопухолевой активности, фармакокинетики (PK) и фармакодинамики (PD) антитела к CD73 373.A как отдельного средства и в комбинации с антагонистом A2aAR PBF509 и/или антителом к PD-1 VAP049-клоном-Е у пациентов со злокачественными новообразованиями на поздней стадии. Основными задачами являются характеристика безопасности и переносимости и определение рекомендуемой дозы (RD) для 373.A как отдельного средства и в комбинации с PBF509 и/или VAP049-клоном-Е. Вторичными задачами являются оценка предварительной противоопухолевой активности и PK 373.A как отдельного средства и в комбинации с PBF509 и/или VAP049-клоном-Е, оценка иммуногенности 373.A и VAP049-клона-Е и характеристика изменений в иммунном инфильтрате в опухолях после лечения, например, изменение по сравнению с исходным уровнем в инфильтрующих опухоль лимфоцитах (TIL), ассоциированных с опухолью макрофагах (TAM), Т-клетках CD8+ и экспрессии PDL-1.

VAP049-клон-Е является высокоаффинным блокирующим лиганд гуманизированным антителом IgG4 к белку-1 запрограммированной смерти клетки (PD-1), которое блокирует связывание PD-L1 и PD-L2 с PD-1. VAP049-клон-Е исследуют в фазе I/II исследования злокачественных новообразований на поздней стадии. PBF509, новое нексантиновое соединение, является сильным антагонистом аденозинового рецептора A2aR для перорального применения. Последовательность VAP049-клона-Е раскрыта в табл. 5.

В двух текущих исследованиях фазы I/II и фазы II оценивают PBF509 как отдельное средство и/или в комбинации с VAP049-клоном-Е у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) на поздней стадии и солидными опухолями и неходжкинской лимфомой соответственно.

Это исследование I/II первоначально будет охватывать взрослых пациентов со злокачественными новообразованиями на поздней стадии, у которых наблюдается прогрессирующее или непереносимое стандартной терапии по показаниям, в случаях когда умеренная или высокая экспрессия CD73 связана с более неблагоприятным исходом, что указывает на аденозинопосредованное иммунное ускользание (Wu et al., *Journal of Surgical Oncology* 2012, 106(2): 130-137; Gaudreau et al., *Oncoimmunology*; 2016, 5(5): e1127496; Inoue et al., *Oncotarget*; 2017, 8(5):8738-8751). Эти показания включают немелкоклеточный рак легких (NSCLC), трижды негативный рак молочной железы (TNBC), рак поджелудочной железы (PDAC), почечно-клеточную карциному (RCC), рак яичника и колоректальный рак с микросателлитной стабильностью (MSS), хотя и дополнительные показания могут быть зарегистрированы на основании появляющихся клинических данных (например, данных об эффективности или доказанной активации пути).

Исследование состоит из двух частей: (1) часть исследования с повышением дозы 373.A как отдельного средства, дублетных комбинаций 373.A/PBF509 и 373.A/VAP049-клона-Е или триплетной комбинации 373.A/PBF509/VAP049-клон-Е, что приводит к декларации рекомендуемых доз (RD) для каждого вида лечения, и (2) часть расширения дозы, где пациенты будут проходить лечение посредством RD для одного средства, дублетных комбинаций и триплетной комбинации. Часть с повышением будет включать пациентов с NSCLC, TNBC, PDAC, RCC, раком яичников и колоректальным раком (MSS) на поздней стадии; и нет никаких ограничений в отношении количества предыдущих средств лечения. В часть расширения дозы будут включены пациенты со злокачественными новообразованиями на поздней стадии, получившие до 3 линий предшествующего лечения.

В части расширения дозы пациенты с каждым показанием будут в равной степени рандомизированы в группы комбинированного лечения. Рандомизация будет проводиться по показаниям и далее стратифицироваться по определенным показаниям до лечения с применением PD-1/PD-L1 (интактного или резистентного).

Выбор дозы и схемы

Монотерапия с помощью 373.A

Начальную дозу, представляющую собой фиксированную дозу 60 мг 373.A, вводимую внутривенно раз в 2 недели (Q2W), выбрали на основе доклинической безопасности, переносимости и данных ПК, наблюдаемых у макаков-крабоедов, и опубликованных историй болезни пациентов с дефицитом CD73.

Считается, что доза 60 мг является минимально фармакологически активной дозой (mPAD), поскольку согласно прогнозам она обеспечивает (1) примерно 20 ч >90% занятости Т-клеток CD8+ CD73, (2) примерно 22 ч >90% ингибирования аденозина, (3) примерно 17 ч >90% подразумеваемой общей занятости CD73.

На основании моделирования данных ТК, полученных в ходе токсикологических исследований на макаках-крабоедах, данных о занятости Т-клеток CD8+ CD73 ex-vivo и данных in vitro об ингибировании образования аденозина прогнозируется, что доза ≥ 1200 мг Q2W обеспечит > 90% занятости мишени на Т-клетках CD8+ в течение интервала введения дозы, и дозы ≥ 600 мг Q2W, согласно прогнозам, обеспечат > 90% ингибирования продуцирования аденозина.

Дозу 373.A будут увеличивать в последовательных когортах, руководствуясь байесовской моделью логистической регрессии (BLRM) в сочетании с критерием контроля передозировки (EWOC), пока не будет определена максимальная переносимая доза (MTD) или рекомендуемая доза (RD) для расширения. Доклинические данные и моделирование дают возможность предположить, что может иметь место высокий антигензависимый клиренс и что для достижения непрерывной занятости мишени в интервале доз могут потребоваться высокие дозы (например, ≥ 1200 мг Q2W). Повышение дозы будет в основном выполняться при схеме Q2W. Однако, если эта схема демонстрирует быструю элиминацию 373.A и отсутствие насыщения мишени в пределах интервала введения дозы, можно исследовать более частую схему QW. Если, с другой стороны, прогнозируется, что схема Q4W обеспечит более медленную элиминацию в пределах интервала введения дозы, вместо этого можно изучать схему Q4W.

Комбинация 373.A/PBF509

Максимальные начальные дозы для дублетной комбинации 373.A/PBF509 будут составлять 200 мг Q2W 373.A и 80 мг BID PBF509.

200 мг Q2W 373.A представляет собой низкую дозу 373.A, которая, согласно прогнозам, обеспечит ~2,3 дней > 90% занятости мишени на Т-клетках CD8+. Доза 200 мг Q2W 373.A составляет 16% от дозы 1200 мг Q2W, которая, как ожидается, обеспечит > 90% занятости мишени Т-клеток CD8+ в течение интервала введения дозы.

PBF509 исследовали как отдельное средство в концентрации до 640 мг BID без каких-либо проблем с безопасностью при прогрессирующей/метастатической NSCLC (только 1 DLT из 5 оцениваемых пациентов при дозе 640 мг BID). В том же исследовании PBF509 продемонстрировал активность как отдельное средство в диапазоне от 80 мг BID до 480 мг BID при 2 частичных ответах (PR) и 6 случаях стабилизации заболевания (SD) у 18 пациентов, получавших дозу.

Подход с увеличением дозы 373.A и PBF509 будет предпринят для определения подходящей дозы каждого лекарственного средства в комбинации при руководстве байесовской моделью логистической регрессии (BLRM) в сочетании с критериями принципа контроля передозировки (EWOC).

Комбинация 373.A/BAР049-клон-Е

Максимальная начальная доза для дублетной комбинации 373.A/BAР049-клон-Е составит 200 мг Q2W 373.A и 400 мг Q4W BAР049-клона-Е.

Обоснование для применения 200 мг Q2W 373.A было описано выше. Дозу 200 мг Q2W 373.A объединяют с RD для BAР049-клона-Е, которая составляет 400 мг Q4W, которая, как было показано, является безопасной и эффективной.

Уровень дозы 373.A будут повышать последовательно при фиксированной дозе BAР049-клона-Е при руководстве байесовской моделью логистической регрессии (BLRM) в сочетании с критериями принципа контроля передозировки (EWOC).

Комбинация 373.A/BAР049-клон-Е/PBF509

Максимальная начальная доза для триплетной комбинации 373.A/BAР049-клон-Е/PBF509 составит 200 мг Q2W 373.A, 400 мг Q4W BAР049-клона-Е и 80 мг BID PBF509.

PBF509 безопасно вводили до 160 мг BID в комбинации с 400 мг Q4W BAР049-клона-Е (только 1 DLT из 6 оцениваемых пациентов) с комбинированной активностью в отношении эффективности: 2 PR и 6 SD из общего количества 10 пациентов. В исследовании Ph2 в настоящее время применяют 160 мг BID PBF509 и 400 мг Q4W BAР049-клона-Е.

Будет применен подход с увеличением дозы для 373.A/BAР049-клон-Е/PBF509 при фиксированной дозе BAР049-клона-Е с целью определить подходящую дозу 373.A и PBF509 в триплетной комбинации

при руководстве байесовской моделью логистической регрессии (BLRM) в сочетании с критерием контроля передозировки (EWOC).

Антитело 373.А (100 мг порошка для приготовления раствора для инфузии) будут вводить внутривенно в течение 1 ч посредством инфузии (до 2 часов, если клинически показано). ВАР049-клон-Е (100 мг порошка для приготовления раствора для инфузии) будут вводить внутривенно в течение 30 минут посредством инфузии (до 2 часов, если клинически показано). При применении в комбинации 373.А и ВАР049-клона-Е следует вводить в один и тот же день, используя отдельные материалы для инфузии (пакет, линии, фильтры) для каждой инфузии. Для обеих инфузий можно применять одно и то же место введения. 373.А необходимо вводить в первую очередь, после чего должен следовать 30-минутный перерыв перед инфузией ВАР049-клона-Е. РВФ509 (40 мг и/или 80 мг и/или 160 мг в капсулах для перорального применения) необходимо принимать перорально два раза в день (ВІD) непрерывно. Во время визитов, во время которых будут вводить 373.А и/или ВАР049-клон-Е, пациент сначала будет принимать дозу РВФ509, а затем получать инфузию 373.А. Перерыв между введением РВФ509 и инфузией 373.А не требуется. Инфузию 373.А следует начинать как можно скорее и не позднее, чем через 60 минут после введения РВФ509.

В табл. 22-25 описаны начальная доза и уровни дозы, которые могут быть оценены в ходе этого испытания. Пациенты, получавшие 373.А как отдельное средство или 373.А в комбинации с ВАР049-клоном-Е и/или РВФ509, начнут исследуемое лечение в цикле 1, день 1. Каждый цикл будет состоять из 28 дней. 373.А Q2W будут вводить в дни 1 и 15 цикла. 373.А QW будут вводить в дни 1, 8, 15 и 22 цикла. 373.А Q4W будут вводить в день 1 цикла. ВАР049-клон-Е Q4W будут вводить в день 1 цикла. РВФ509 ВІD будут вводить каждый день цикла.

Таблица 22
Предварительные уровни доз для 373.А

Уровень дозы	Предложенная введения дозы*	схема	Увеличение дозы	предыдущей
-2**	6 мг Q2W		-233%	
-1**	20 мг Q2W		-200%	
1	60 мг Q2W		(начальная доза)	
2	200 мг Q2W		233%	
3	600 мг Q2W		200%	
4	1200 мг Q2W		100%	
5	2400 мг Q2W		100%	
6	3600 мг Q2W		50%	

*Возможно, что дополнительные и/или промежуточные уровни дозы будут добавлены в ходе исследования. Когорты могут быть добавлены при любом уровне дозы ниже МТD для улучшения понимания безопасности, РК или РD.

**Уровень дозы -1 и -2 представляет дозы лечения для пациентов, нуждающихся в снижении дозы относительно начального уровня дозы. Для данного исследования не допускается снижение дозы ниже уровня дозы -2.

Таблица 23
Предварительные уровни дозы для 373.А в комбинации с PBF509

Уровень дозы	Предложенная доза 373.А*	Увеличение предыдущей дозы 373.А	Предложенная доза PBF509*	Увеличение предыдущей дозы PBF509
-2**	20 мг Q2W	-200%	40 мг BID	0%
-1**	60 мг Q2W	-233%	40 мг BID	-100%
1	200 мг Q2W	(начальная доза)	80 мг BID	(начальная доза)
2	200 мг Q2W	0%	160 мг BID	100%
3	600 мг Q2W	200%	160 мг BID	0%
4	1200 мг Q2W	100%	160 мг BID	0%
5	2400 мг Q2W	100%	160 мг BID	0%
6	2400 мг Q2W	100%	320 мг BID	100%
7	2400 мг Q2W		480 мг BID	
8	2400 мг Q2W		620 мг BID	
9	3600 мг Q2W		320 мг BID	
10	3600 мг Q2W		480 мг BID	
11	3600 мг Q2W		620 мг BID	

*Возможно, что дополнительные и/или промежуточные уровни дозы будут добавлены в ходе исследования. Когорты могут быть добавлены при любом уровне дозы ниже MTD для улучшения понимания безопасности, PK или PD.

**Уровень дозы -1 и -2 представляет терапевтические дозы для пациентов, нуждающихся в снижении дозы относительно начального уровня дозы. Для данного исследования не допускается снижение дозы ниже уровня дозы -2.

Таблица 24
Предварительные уровни дозы для 373.А в комбинации с ВАР049-клоном-Е

Уровень дозы	Предложенная доза 373.А*	Увеличение предыдущей дозы 373.А	Предложенная доза ВАР049-клона-Е	Увеличение предыдущей дозы ВАР049-клона-Е
-2**	20 мг Q2W	-200%	400 мг Q4w	0%
-1**	60 мг Q2W	-233%	400 мг Q4w	0%
1	200 мг Q2W	(начальная доза)	400 мг Q4w	(начальная доза)
2	600 мг Q2W	200%	400 мг Q4w	0%
3	1200 мг Q2W	100%	400 мг Q4w	0%
4	2400 мг Q2W	100%	400 мг Q4w	0%
5	3600 мг Q2W	50%	400 мг Q4W	0%

*Возможно, что дополнительные и/или промежуточные уровни дозы будут добавлены в ходе исследования. Когорты могут быть добавлены при любом уровне дозы ниже MTD для улучшения понимания безопасности, PK или PD.

**Уровень дозы -1 и -2 представляет терапевтические дозы для пациентов, нуждающихся в снижении дозы относительно начального уровня дозы. Для данного исследования не допускается снижение дозы ниже уровня дозы -2.

Таблица 25
Предварительные уровни дозы для PBF509 в комбинации с 373.A и VAR049-клоном-Е

Уров нь дозы	Предложен ная доза 373.A*	Увеличен	Предложен ная доза VAR049- клона-Е	Увеличен	Предложен ная доза PBF509*	Увеличен
		не предыду щей дозы 373.A		не предыду щей дозы VAR049- клона-Е		не предыду щей дозы PBF509
-2**	20 мг Q2W	-200%	400 мг Q4W	0%	40 мг BID	0%
-1**	60 мг Q2W	-233%	400 мг Q4W	0%	40 мг BID	-100%
1	200 мг Q2W	(начальна я доза)	400 мг Q4W	(начальна я доза)	80 мг BID	(начальна я доза)
2	200 мг Q2W	0%	400 мг Q4W	0%	160 мг BID	100%
3	600 мг Q2W	200%	400 мг Q4W	0%	160 мг BID	0%
4	1200 мг Q2W	100%	400 мг Q4W	0%	160 мг BID	0%
5	2400 мг Q2W	100%	400 мг Q4W	0%	160 мг BID	0%
6	2400 мг Q2W		400 мг Q4W		320 мг BID	
7	2400 мг Q2W		400 мг Q4W		480 мг BID	
8	2400 мг Q2W		400 мг Q4W		620 мг BID	
9	3600 мг Q2W		400 мг Q4W		320 мг BID	
10	3600 мг Q2W		400 мг Q4W		480 мг BID	
11	3600 мг Q2W		400 мг Q4W		620 мг BID	

*Возможно, что дополнительные и/или промежуточные уровни дозы будут добавлены в ходе исследования. Когорты могут быть добавлены при любом уровне дозы ниже MTD для улучшения понимания безопасности, PK или PD.

**Уровень дозы -1 и -2 представляет терапевтические дозы для пациентов, нуждающихся в снижении дозы относительно начального уровня дозы. Для данного исследования не допускается снижение дозы ниже уровня дозы -2.

Пример 8. Анализ кристаллической структуры

Клонирование

Фрагмент Fab 350.A2 получали путем конструирования стоп-кодона между двумя остатками пролина выше коровой шарнирной области тяжелой цепи антитела 350.A2. Fab 350.A2 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 331, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23. ECD CD73 с his-меткой (SEQ ID NO: 171), клонировали в вектор pRS5a.

Экспрессия и очистка

Клетки Expi293F трансфицировали при соотношении 350.A2 и ECD CD73 1:1, а через пять дней после трансфекции клетки осаждали при 2000 об/мин. За это время комплекс Fab:CD73 секретируется в супернатант. Супернатант фильтровали через фильтр SteriFlip 0,2 мкм. Гранулированный клеточный дебрис отбрасывали. Комплекс Fab-ECD очищали с использованием колонки с белком L с последующим применением колонки Mono Q. После элюирования из колонки MonoQ комплекс (захваченный в потоке)

повторно очищали с использованием колонки с белком L. Очищенный образец подвергали диализу относительно 10 mM Tris, pH 7,5, 100 mM NaCl и анализировали с помощью SEC-MALS в отношении чистоты. Затем его концентрировали до 9 мг/мл.

Кристаллизация, криоконсервация и сбор данных

Комплекс Fab 350.A2-CD73 кристаллизовали с применением способа висячей капли. Перед установкой лотков для кристаллизации очищенный комплекс подвергали вращению при 14000 об./мин в течение 10 минут для удаления агрегированного белка и дебриса. После этого 1,0 мкл комплекса при концентрации 9 мг/мл смешивали с 1,0 мкл белкового осадителя, состоящего из 0,2 M Li₂SO₄, 1,2 M NaH₂PO₄, 0,8 M K₂HPO₄, 0,1 M глицина, pH 10,5, а затем суспендировали в лунке с 300 мкл белкового осадителя. Кристаллы выращивали примерно 3-4 дня. Кристаллы собирали и затем криоконсервировали с помощью раствора белкового осадителя в комбинации с 25% (об.:об.) глицерина. Данные дифракции рентгеновских лучей собирали на Advanced Light Source, лучевая линия 5.0.1. Данные дифракции можно было применять до примерно 2,85 Ангстрем.

Разрешение и уточнение структуры

Структуру 350.A2 моделировали с использованием Fab-фрагмента AL-57 (код доступа RCSB 3H15) в качестве шаблона с применением набора моделирования MOE. Совместную структуру разрешали с применением программы PHASER и димерной структуры гликозилированного CD73 человека (RCSB 4H1S) и модели гомологии Fab в качестве поисковых моделей. Вкратце, димерную структуру CD73 человека применяли в качестве первой поисковой модели, определяющей положение двух димеров CD73 человека в асимметричной единице. Эту первоначальную структуру уточняли с помощью Phenix-Refine. Впоследствии модели гомологии тяжелой и легкой цепей применяли как отдельные модели поиска с определением таким образом положения двух Fab по отношению к двум димерам CD73 человека. Завершенную структуру подвергали уточнению с совмещением в ходе нескольких этапов уточнения и реорганизации в реальном пространстве. Конечный R-фактор и свободный R-фактор составили 22,78% и 27,12% соответственно. Карты электронной плотности показывают, что каждый мономер CD73 гликозилирован по аспарагину-311. Однако такое гликозилирование является гетерогенным, и, таким образом, невозможно определить точную химическую структуру события гликозилирования. В связи с этим гликозилирование не входит в структурную модель.

Совместная кристаллическая структура Fab 350.A2-CD73 обеспечивает выявление взаимодействия антитела с CD73. Эти взаимодействия могут быть разделены на прямые энтальпические взаимодействия, такие как водородные связи или электростатические взаимодействия, и вандерваальсовы и гидрофобные взаимодействия, которые обусловлены комплементарностью формы между антителом и CD73.

Ключевые энтальпические и VDW/гидрофобные взаимодействия, идентифицированные посредством совместной кристаллической структуры, являются следующими. Следующие взаимодействия имеют место между тяжелой цепью Fab и CD73. Остатки тяжелой цепи Fab пронумерованы согласно Kabat и выделены на фиг. 26C и 26D (жирным шрифтом, курсивом и подчеркнуты линией). Остатки CD73 пронумерованы в соответствии с SEQ ID NO: 105 и выделены на фиг. 26A и 26B (жирным шрифтом, курсивом и подчеркнуты линией).

R54 тяжелой цепи Fab расположен для электростатических взаимодействий с карбонильными группами остова Y110 и K136 в CD73.

R31 тяжелой цепи Fab расположен для электростатических взаимодействий с карбонильными группами остова L132 и L157 в CD73.

Карбонильная группа остова S99, карбонильная группа остова R31 и боковая цепь E95 тяжелой цепи Fab расположены для электростатического взаимодействия с боковой цепью K162 CD73.

Боковая цепь E98 тяжелой цепи Fab расположена для водородной связи с боковой цепью S155 в CD73.

Комплементарность формы и вандерваальсовы взаимодействия между аминокислотами 33, 50, 52, 56, 97, 98, 100 и 100a тяжелой цепи Fab и аминокислотами 155-170 CD73.

Комплементарность формы и вандерваальсовы взаимодействия между аминокислотами 30-31 тяжелой цепи Fab и аминокислотами 136-138 CD73.

Следующие взаимодействия имеют место между легкой цепью Fab и CD73. Остатки легкой цепи Fab пронумерованы согласно Kabat и выделены на фиг. 26G и 26H (жирным шрифтом, курсивом и подчеркнуты линией). Остатки CD73 пронумерованы в соответствии с SEQ ID NO: 105 и выделены на фиг. 26E и 26F (жирным шрифтом, курсивом и подчеркнуты линией).

Боковая цепь W32 легкой цепи Fab расположена для водородной связи с боковой цепью T209CD73.

Комплементарность формы и вандерваальсовы взаимодействия между аминокислотами 30-32 легкой цепи Fab и аминокислотами 209-210 CD73.

Пример 9. Эпитопное картирование с применением изотопного мечения с помощью метки для тандемной масс-спектрометрии (TMT)

Сравнения антител с использованием реагентов, кодирующих изотоп для TMT, в основном проводили, как описано в John D. et al., Analytical Chemistry 2015 87 (15), 7540-7544, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Способы

Мечение с помощью ТМТ

Антитела в DPBS имели следующие концентрации и их использовали без дальнейшей обработки: 374 (1,37 мг/мл), 377.В (2,25 мг/мл), 379.В (2,82 мг/мл), 373 (1 мг/мл) и 350 (1 мг/мл). CD73 (R&D Systems, кат. № 5795-EN) подвергали замене буфера на 100 мМ буфера на основе бикарбоната триэтиламония (TEAB), pH 8, и концентрировали до 5 мг/мл для удаления свободного амина в полученном материале и условном образце для мечения с помощью ТМТ с применением микроконцентраторов с отсечением по молекулярной массе 10 кДа (Millipore Amicon Ultra). Комплексы антиген/антитело (комплексы CD73/mAb к CD73) получали посредством объединения 10 мкг CD73 с 12,8 мкг mAb (эквивалентные количества или в молярном соотношении 2:1 CD73:mAb или 1:1 по сайтсвязывающим эквивалентам) при концентрации примерно 2 мкМ по отношению к CD73 в 100 мМ TEAB, буфере с pH 8, и уравнивания в течение 30 мин. при комнатной температуре. Мечение проводили с помощью добавления 5 мкл 35 мМ реагента для ТМТ. Для мечения аналогичным образом получали контроль, представляющий собой отдельно CD73. Время мечения составляло 30 с и 300 с соответственно, после чего реакцию мечения гасили с помощью добавления 50 мкл 5% раствора гидроксилламина. Все реакции проводили в двух повторностях.

Расщепление

Образцы объединяли через 15 мин после гашения гидроксилламина в концентраторе-центрифуге и общий объем уменьшали до ~30 мкл. За этим следовало дегликозилирование посредством PNGазы F и разделение восстанавливающей/денатурирующей SDS PAGE с помощью стандартных способов.

Полосы, содержащие CD73, вырезали из геля для расщепления в геле. Обработку геля проводили в соответствии со стандартными процедурами обесцвечивания, восстановления, алкилирования и дегидратации. Для кондиционирования перед расщеплением эластазой дегидратированные кусочки геля регидратировали с помощью 50 мМ Tris-буфера, pH 8, тогда как для расщепления пепсином применяли 1% муравьию кислоту на последней стадии регидратации перед полной дегидратацией в вакууме.

Образцы для расщепления эластазой регидратировали в течение 1 ч. на льду путем добавления 25 мкл 12,5 нг/мкл эластазы в 50 мМ Tris, pH 8. Образцы для расщепления пепсином регидратировали в течение 1 ч. на льду путем добавления 25 мкл 10 нг/мкл пепсина в 1% муравьиной кислоты.

После регидратации ферментами избыток раствора фермента отбрасывали и добавляли 50 мкл соответствующего буфера для расщепления перед расщеплением в течение 4 ч. при 37°C. После расщепления снова следовало восстановление пептидов согласно стандартной методике расщепления в геле.

LCMSMS

LCMSMS выполняли с применением масс-спектрометра Orbitrap Lumos (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс), соединенного с хроматографической системой Easy-nLC 1200 (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс). Разделительная колонка представляла собой капилляр 75 мкм с вытянутым наконечником, заполненный 15 см ReproSil-Pur 120 C18 AQ 3 мкм (каталожный № r13.aq). Протеолитические фрагменты элюировали с применением сегментированного градиента от 0-35% В 120 мин, 35-63% В 30 мин, 63-100% В 5 мин, 100% В выдерживали в течение 5 мин, 100-0% В 2 мин, 0% В выдерживали в течение 2 мин при скорости потока 500 нл/мин с использованием элюирующих буферов А=0,1% муравьиной кислоты в воде и В=0,1% муравьиной кислоты в 80%-MCN.

В способе сбора данных применяли параметры способа по умолчанию в соответствии с производителем для эксперимента ТМТ с обнаружением MSMS.

Предварительная обработка и анализ данных

В отношении необработанных данных проводили поиск по отношению к последовательности белка CD73 с применением MASCOT 2.5.1 (MatrixScience, Великобритания) с помощью MASCOT Daemon (MatrixScienc, Великобритания) и ExtractMSn (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс) для конвертации и объединения необработанных файлов для эластазы и пепсина в списки пиков.mgf. Для количественного определения применяли способ TMTIOplex по умолчанию, встроенный в MASCOT. Результаты поиска, включая значения интенсивности репортерных ионов ТМТ, экспортировали как.csv и дополнительно уточняли/откалибровывали для удаления выпадающих значений перед проведением расчета взвешенных по интенсивности средних значений интенсивности репортерных ионов по спектральным совпадениям пептидов (PSM) для данного остатка лизина первичной последовательности с помощью Microsoft Excel. Применяли в анализе только PSM пептидов, содержащих один остаток лизина, для избежания неоднозначности в месте мечения.

Результаты

Взвешенные по интенсивности CD73 нормализованные соотношения интенсивности репортерных ионов, охватывающие наблюдаемые остатки лизина первичной последовательности, представлены в виде разности между соотношением комплекса CD73/mAb к CD73 и CD73 (1 по определению нормализации). Построение соотношения таким способом обеспечивает непосредственную оценку изменений скорости мечения, возникающих в результате образования комплекса. Отрицательные значения разности свидетельствуют о снижении уровня мечения в комплексах антитело/антиген и интерпретируются аналогично данным HDX как введение защиты. Ожидается, что самые сильные защитные эффекты отражают

экранирование белковой поверхности антигена от реагента с помощью антитела. Помимо прямого экранирования на границе раздела белок-белок, изменения в других местах не являются неожиданными, так как образование белка в целом и конформационное множество в целом могут нарушаться в результате образования комплекса. Несмотря на сложности, это облегчает интерпретацию молекулярных событий в абсолютном масштабе. Вполне вероятно, что антитела, проявляющие сходные общие эффекты (профили мечения) при образовании комплекса, будут иметь сходные эпитопы и проявлять свою эффекторную функцию посредством сходных молекулярных механизмов. Все остатки, показанные в этом примере, пронумерованы в соответствии с SEQ ID NO: 105.

На фиг. 27A и 27B показана разность соотношений для 29 из 35 остатков лизина в первичной последовательности CD73, наблюдаемая при осуществлении мечения в течение 30 с. Наличие защиты по остаткам лизина K162, K206 и K214 (фиг. 27A) хорошо коррелирует с предшествующей интерпретацией HDX эпитопа 373 (пример 2). Конкретно, в исследовании HDX определены остатки 158-172 (YLPYK-VLPVGDDEVVG, SEQ ID NO:108, А-петля), которые охватывают K162; и остатки 206-215 (KLKTLNVN-KI, SEQ ID NO:109, В-петля), которые охватывают K206 и K214, в качестве части эпитопа 373. Наличие защиты по остаткам лизина K285 и K291 (фиг. 27B) согласуется с незначительной защитой, наблюдаемой в предыдущих данных HDX в области вокруг остатка 300 (фиг. 14 и пример 2). K262 и K274 расположены на противоположных сторонах N-концевого домена относительно эпитопа (K162, K206 и K214), и увеличение уровня мечения по этим двум остаткам (фиг. 27A) может отражать "дестабилизацию" в данной области как следствие вовлечения mAb. K136 пространственно близок к K162, но расположен ближе к центру димера. Защита по K136 для антител 374, 377, 379 и 373 (фиг. 27A) согласуется с режимом бидентатного связывания, описанным для 373 в примере 2. Эти данные дают основание предполагать, что антитела 374, 377, 379 и 373 могут образовывать очень однородную группу. K341 расположен на границе раздела N/C-концевых доменов и близко к границе раздела димера.

На фиг. 28A и 28B показана разность соотношений для 29 из 35 остатков лизина в первичной последовательности CD73, наблюдаемая при осуществлении мечения в течение 300 с. Защита по K162 больше не наблюдается в случае mAb 374, 377, 379 и 373, в то время как защита в случае 350 остается сильной. Напротив, защита в случае K206 и K214 является неизменной. Это является дополнительным доказательством высокой гомологичной природы антител 374, 377, 379 и 373 согласно оценке их пространственно-временных характеристик мечения.

Примечательно, что в случае всех этих антител защита в случае K206 сравнима с защитой в случае K214 (фиг. 27A и 28A).

Включение посредством ссылки

Все публикации, патенты и номера доступа, упомянутые в данном документе, настоящим включены в данный документ посредством ссылки в полном их объеме, как если бы каждая отдельная публикация или патент были конкретно и индивидуально указаны как включенные посредством ссылки.

Эквиваленты

Хотя были обсуждены конкретные варианты осуществления настоящего изобретения, приведенное выше описание является иллюстративным, а не ограничивающим. Многие вариации настоящего изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники после ознакомления с настоящим описанием и нижеприведенной формулой изобретения. Полный объем настоящего изобретения должен определяться посредством ссылки на пункты формулы изобретения наряду с полным объемом их эквивалентов, а также описанием наряду с такими вариациями.

кислотную последовательность VHCDR2 под SEQ ID NO: 36, и аминокислотную последовательность VHCDR3 под SEQ ID NO: 43; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 под SEQ ID NO: 48, аминокислотную последовательность VLCDR2 под SEQ ID NO: 49 и VLCDR3 под SEQ ID NO: 50.

6. Молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, содержащая вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

7. Молекула антитела, которая связывается с CD73 человека, содержащая тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46, где остаток 451 SEQ ID NO: 46 представляет собой K, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

8. Молекула антитела по любому из пп.1-7, где

(i) молекула антитела представляет собой антитело человека, полноразмерное антитело, фрагмент Fab, F(ab')₂, Fv или одноцепочечный Fv (scFv);

(ii) молекула антитела содержит константную область тяжелой цепи, выбранную из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, и константную область легкой цепи, выбранную из константных областей легкой каппа-цепи или лямбда-цепи; или

(iii) молекула антитела содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 92-103, 119 и 120, и/или константную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 104.

9. Молекула антитела по любому из пп.1-8, содержащая константную область тяжелой цепи IgG4 и константную область легкой каппа-цепи.

10. Молекула антитела по любому из пп.1-9, содержащая:

константную область тяжелой цепи IgG4 человека с мутацией в положении 228 согласно нумерации EU, или

константную область тяжелой цепи IgG4 человека с мутацией серии на пролин в положении 228 согласно нумерации EU, или

константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92 или 93.

11. Молекула антитела по любому из пп.1-10, которая характеризуется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или всеми из следующих свойств:

(i) связывается с CD73 человека с константой диссоциации (K_D), составляющей менее чем 1×10^{-8} M, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением системы Octet;

(ii) связывается с растворимым CD73 человека и/или мембраносвязанным CD73 человека;

(iii) не связывается с CD73 мыши;

(iv) ингибирует или уменьшает ферментативную активность CD73 (например, растворимого CD73 человека или мембраносвязанного CD73 человека), или уровень опосредованного CD73 человека преобразования аденозинмонофосфата (AMP) в аденозин;

(v) ингибирует ферментативную активность мембраносвязанного CD73 человека на, по меньшей мере, 60%, 70%, 80% или 90%;

(vi) увеличивает уровень пролиферации T-клеток, стимулированных антителом к CD3/антителом к CD28, или T-клеток CD4⁺, в присутствии аденозинмонофосфата (AMP);

(vii) связывается с N-концевым доменом CD73 человека;

(viii) уменьшает уровень водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, или белка, состоящего из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171, при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105;

(ix) при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, или белком, состоящим из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 171), вызывает конформационное изменение остатков 368-387 из SEQ ID NO: 105;

(x) взаимодействует с, по меньшей мере, одним, двумя, тремя или четырьмя остатками в пределах остатков 158-172 из SEQ ID NO: 105;

(xi) взаимодействует с, по меньшей мере, одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 206-215 из SEQ ID NO: 105;

(xii) взаимодействует с, по меньшей мере, одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 368-387 из SEQ ID NO: 105 или 106;

(xiii) взаимодействует с, по меньшей мере, одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью остатками в пределах остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105;

(xiv) связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с

первым мономером CD73, и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73;

(xv) связывается с CD73 человека в каталитически активной закрытой конформации с более низкой аффинностью, чем при связывании молекулы антитела с CD73 человека в каталитически неактивной открытой конформации;

(xvi) блокирует CD73 человека в каталитически неактивной открытой конформации; или

(xvii) предотвращает превращение CD73 человека из каталитически неактивной открытой конформации в каталитически активную закрытую конформацию или уменьшает его уровень по сравнению с уровнем превращения в отсутствие молекулы антитела; или

(xviii) связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, при этом, если молекула антитела содержит первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен, первый антигенсвязывающий домен связывается с первым мономером CD73, и второй антигенсвязывающий домен связывается со вторым мономером CD73.

12. Комбинация молекул антител по любому из пп.1-11, где комбинация молекул антител связывается с димером CD73 человека, причем указанный димер состоит из первого мономера CD73 и второго мономера CD73, причем каждый мономер содержит аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при этом, если каждая из молекул антител в комбинации содержит один и тот же первый антигенсвязывающий домен и один и тот же второй антигенсвязывающий домен,

(i) по меньшей мере, 30%, 35% или 40% молекул антитела в указанной комбинации связываются с димером CD73 с образованием комплекса, где каждый из указанных комплексов состоит из одной молекулы антитела и одного димера CD73; или

(ii) не более 60%, 65% или 70% молекул антитела в указанной комбинации связываются с димером CD73 с образованием указанного комплекса, где каждый из указанных комплексов содержит две или более молекул антител и два или более димеров CD73.

13. Молекула антитела по любому из пп.1-11, где:

(a) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105;

(b) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остатку(ам) X_C, выбранным из коровой области C, или остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, в большей степени, чем по остатку(ам) X_A, выбранным из коровой области A, или остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, по остатку(ам) X_B, выбранным из коровой области B, или остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, или по остатку(ам) X_D, выбранным из коровой области D, или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 или pH 7,5 и комнатной температуре, при этом

X_C равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20,

X_A равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14,

X_B равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, и

X_D равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 13;

(c) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, обеспечивает уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена по остатку(ам) X_A, выбранным из коровой области A, или остаткам 158-172 из SEQ ID NO: 105, в большей степени, чем по остатку(ам) X_B, выбранным из коровой области B, или остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, по остатку(ам) X_C, выбранным из коровой области C, или остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, или по остатку(ам) X_D, выбранным из коровой области D, или остаткам 297-309 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 или pH 7,5 и комнатной температуре, при этом

X_A равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14,

X_B равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, и

X_C равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20,

X_D равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 13;

(d) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня водородно-дейтериевого обмена в одной или нескольких областях белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при его связывании, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 158-172, остатков 206-215, остатков 368-387 и остатков 87-104 из SEQ ID NO: 105, при этом область, характеризующаяся наибольшим уменьшением среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, из одной или нескольких областей, не представляет собой остатки 206-215 из SEQ

ID NO: 105; или

(е) молекула антитела при связывании с белком, содержащим аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, обеспечивает

(i) уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющее более чем, например, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 или 0,06 Да на остаток, по остаткам 368-387 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 или pH 7,5 и комнатной температуре; или

(ii) уменьшение среднего уровня водородно-дейтериевого обмена, составляющее менее чем, например, 0,05, 0,04, 0,03 или 0,02 Да на остаток, по остаткам 206-215 из SEQ ID NO: 105, например, при исследовании молекулы антитела в виде молекулы бивалентного антитела с применением масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена, проводимой с обменом в течение 1 минуты при pH 7-8 или pH 7,5 и комнатной температуре.

14. Молекула антитела по любому из пп.1-11 или 13, где

(а) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью метки для тандемной масс-спектрометрии (ТМТ) по остатку K136 (пронумерованному в соответствии с SEQ ID NO: 105) белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105;

(b) молекула антитела обеспечивает увеличение уровня мечения с помощью ТМТ по одному или обоим из остатков K262 и K274, пронумерованным в соответствии с SEQ ID NO: 105, белка при связывании с ним;

(с) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью метки для тандемной масс-спектрометрии (ТМТ) по остаткам K206 и K214, пронумерованным в соответствии с SEQ ID NO: 105, белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при его связывании, при этом уменьшение по остатку K214 составляет не менее 90, 80, 70, 60 или 50% от уменьшения по остатку K206; или

(d) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью метки для тандемной масс-спектрометрии (ТМТ) по остатку K162, пронумерованному в соответствии с SEQ ID NO: 105, белка, содержащего аминокислотную последовательность из остатков 27-547 из SEQ ID NO: 105, при его связывании при исследовании молекулы антитела с применением изотопного мечения с помощью ТМТ, проводимого в течение времени мечения, составляющего 30 с, при этом

(i) молекула антитела не обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью ТМТ по остатку K162 при исследовании с применением изотопного мечения с помощью ТМТ, проводимого в течение времени мечения, составляющего 300 с, или

(ii) молекула антитела обеспечивает уменьшение уровня мечения с помощью ТМТ по остатку K162 при исследовании с применением изотопного мечения с помощью ТМТ, проводимого в течение времени мечения, составляющего 300 с, при этом уменьшение по остатку K162 при времени мечения, составляющем 300 с, составляет не более 20, 30, 40 или 50% от уменьшения по остатку K162 при времени мечения, составляющем 30 с.

15. Молекула антитела по любому из пп.1-11, 13 или 14, где

(i) молекула антитела связывается с одним или несколькими остатками CD73, где один или несколько остатков выбраны из группы, состоящей из остатков Y110, K136, L132, L157, K162, S155 и T209, пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105;

(ii) молекула антитела связывается с Y110 или с K136 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105;

(iii) молекула антитела связывается с L132 или с L157 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105;

(iv) молекула антитела связывается с K162 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105,

(v) молекула антитела связывается с S155 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105; и

(vi) молекула антитела связывается с T209 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105;

(vii) молекула антитела связывается с одной или несколькими областями CD73, при этом одна или несколько областей выбраны из группы, состоящей из остатков 155-170, 136-138 и 209-210, пронумерованных в соответствии с SEQ ID NO: 105;

(viii) молекула антитела связывается с остатками 155-170 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105;

(ix) молекула антитела связывается с остатками 136-138 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105; или

(x) молекула антитела связывается с остатками 209-210 из CD73.

16. Молекула антитела по п.15, где:

(i) молекула антитела связывается с остатками Y110, L132 и/или K162 из CD73, пронумерованного

в соответствии с SEQ ID NO: 105 посредством электростатического взаимодействия;

(i) молекула антитела связывается с остатками S155 и/или T209 из CD73, пронумерованного в соответствии с SEQ ID NO: 105, посредством водородной связи; и/или

(ii) молекула антитела связывается с остатками 155-170, 136-138, и/или 209-210 из CD73, пронумерованного согласно SEQ ID NO: 105, посредством комплементарности формы и/или вандерваальсовых взаимодействий.

17. Фармацевтическая композиция, содержащая молекулу антитела по любому из пп.1-11 или 13-16 и фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество или стабилизатор.

18. Нуклеиновая кислота, кодирующая вариабельную область тяжелой молекулы антитела по любому из пп.1-11 или 13-16.

19. Нуклеиновая кислота, кодирующая вариабельную область легкой цепи молекулы антитела по любому из пп.1-11 или 13-16.

20. Нуклеиновая кислот по п.18 или 19, где

(i) нуклеиновая кислота кодирует вариабельную область тяжелой цепи, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 45, 78, 85, 143, 152 или 160, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 45, 78, 85, 143, 152 или 160;

(ii) нуклеиновая кислота кодирует тяжелую цепь, при этом нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 47, 80 или 87, или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 47, 80 или 87.

(iii) нуклеиновая кислота кодирует вариабельную область легкой цепи, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 56 или 144 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 56 или 144; или

(iv) нуклеиновая кислота кодирует легкую цепь, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность под SEQ ID NO: 58 или нуклеотидную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, 85%, 90%, 95% или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 58.

21. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по любому из пп.18-20.

22. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по любому из пп.18-20 или вектор экспрессии по п.21.

23. Способ получения молекулы антитела, которая связывается с CD73 человека, где способ предусматривает культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу антитела по любому из пп.1-11 или 13-16, в условиях, подходящих для экспрессии генов.

24. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-11 или 13-16 или фармацевтической композиции по п.17 для производства лекарственного средства для стимуляции иммунного ответа у субъекта.

25. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-11 или 13-16 или фармацевтической композиции по п.17 для производства лекарственного средства для лечения рака у субъекта, где рак выбран из рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, рака поджелудочной железы, аденокарциномы протоков поджелудочной железы, рака молочной железы, трижды негативного рака молочной железы, меланомы, рака головы и шеи, например плоскоклеточного рака головы и шеи, колоректального рака, колоректального рака с микросателлитной стабильностью (MSS), рака яичника, или рака почки, или например, почечно-клеточной карциномы.

26. Применение по п.24 или 25, где

(i) молекулу антитела применяют в дозе от 100 мг до 1600 мг, от 100 мг до 1400 мг, от 100 мг до 1200 мг, от 100 мг до 1000 мг, от 100 мг до 800 мг, от 100 мг до 600 мг, от 100 мг до 400 мг, от 100 мг до 200 мг или 100 мг, 180 мг или 200 мг раз в две недели (Q2W);

(ii) молекулу антитела применяют в дозе от 5 мг до 100 мг, от 100 мг до 500 мг, от 500 мг до 1000 мг, от 1000 мг до 1500 мг, от 1500 мг до 2000 мг, от 2000 мг до 2500 мг, от 2500 мг до 3000 мг, от 3000 мг до 3500 мг или от 3500 мг до 4000 мг;

(iii) молекулу антитела применяют в комбинации с ингибитором PD-1;

(iv) молекулу антитела применяют в комбинации с антагонистом аденозинового рецептора A2AR; или

(v) молекулу антитела применяют в комбинации с ингибитором PD-1 и антагонистом аденозинового рецептора A2AR.

27. Применение по п.26, где:

(i) молекулу антитела применяют по меньшей мере в дозе 180 мг Q2W;

(ii) молекулу антитела применяют внутривенно;

(iii) молекулу антитела применяют в дозе 6 мг, 20 мг, 60 мг, 200 мг, 600 мг, 1200 мг, 2400 мг, 3000 мг, или 3600 мг; или

(iv) антитело применяют раз в неделю (QW), раз в две недели (Q2W) или раз в четыре недели (Q4W);

- (v) ингибитор PD-1 выбирают из группы, состоящей из PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидиллизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 и AMP-224;
- (vi) ингибитор PD-1 представляет собой молекулу антитела к PD-1, где молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 250 мг до 350 мг, от 350 мг до 450 мг или от 450 мг до 550 мг, 300 мг или 400 мг;
- (vii) ингибитор PD-1 представляет собой молекулу антитела к PD-1, где молекулу антитела применяют раз в три недели (Q3W) или раз в четыре недели (Q4W) в дозе 300 мг Q3W или в дозе 400 мг Q4W;
- (viii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 5 мг до 100 мг, или 20 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W;
- (ix) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 5 мг до 100 мг, 60 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W;
- (x) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 100 мг до 500 мг, или 200 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W;
- (xi) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 500 мг до 1000 мг, или 600 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W;
- (xii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 1000 мг до 1500 мг, или 1200 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг или 400 мг, Q4W;
- (xiii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 2000 мг до 2500 мг, или 2400 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W;
- (xiv) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3000 мг до 3500 мг, или 3000 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W;
- (xv) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3500 мг до 4000 мг, или 3600 мг, Q2W, и молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W;
- (xvi) молекулу антитела к CD73 и молекулу антитела к PD-1 применяют внутривенно;
- (xvii) антагонист аденозинового рецептора A2AR выбирают из группы, состоящей из PBF509, CPI444, AZD4635, випаденанта, GBV-2034 и AB928;
- (xviii) антагонист аденозинового рецептора A2AR выбирают из группы, состоящей из 5-бром-2,6-ди-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-4-амин; (S)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиримидин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин; (R)-7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиримидин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин или его рацемата; 7-(5-метилфуран-2-ил)-3-((6-(((тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)пиримидин-2-ил)метил)-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-d]пиримидин-5-амин и 6-(2-хлор-6-метилпиримидин-4-ил)-5-(4-фторфенил)-1,2,4-триазин-3-амин;
- (xix) антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 20 мг до 60 мг, от 60 мг до 100 мг, от 100 мг до 140 мг, от 140 мг до 180 мг, от 180 мг до 220 мг, от 220 мг до 260 мг, от 260 мг до 300 мг, от 300 мг до 340 мг, от 340 мг до 380 мг, от 380 мг до 480 мг, от 480 мг до 580 мг, или от 580 мг до 680 мг, 40 мг, 80 мг, 160 мг, 320 мг, 480 мг или 620 мг;
- (xx) антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют раз в день (QD), два раза в день (BID) или три раза в день (TID);
- (xxi) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 5 мг до 100 мг, или 20 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 20 мг до 60 мг, или 40 мг, BID;
- (xxii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 5 мг до 100 мг, или 60 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 20 мг до 60 мг, или 40 мг, BID;
- (xxiii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 100 мг до 500 мг, или 200 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 60 мг до 100 мг, или 80 мг, BID;
- (xxiv) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 100 мг до 500 мг, или 200 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 140 мг до 180 мг, или 160 мг, BID;
- (xxv) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 500 мг до 1000 мг, или 600 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 140 мг до 180 мг, или 160 мг, BID;
- (xxvi) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 1000 мг до 1500 мг, или 1200 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 140 мг до 180 мг, или 160 мг, BID;
- (xxvii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 2000 мг до 2500 мг, или 2400 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 140 мг до 180 мг, или 160 мг, BID;
- (xxviii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 2000 мг до 2500 мг, или 2400 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 300 мг до 340 мг, или 320 мг, BID;
- (xxix) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 2000 мг до 2500 мг, или 2400 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 480 мг до 580 мг, или 480 мг, BID;
- (xxx) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 2000 мг до 2500 мг, или 2400 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 580 мг до 680 мг, или 620 мг, BID;
- (xxxi) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3000 мг до 3500 мг, или 3000 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 300 мг до 340 мг, или 320 мг, BID;
- (xxxii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3000 мг до 3500 мг, или 3000 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 480 мг до 580 мг, или 480 мг, BID;

(xxxiii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3000 мг до 3500 мг, или 3000 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 580 мг до 680 мг, или, 620 мг, BID,

(xxxiv) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3500 мг до 4000 мг, или 3600 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 300 мг до 340 мг, или 320 мг, BID,

(xxxv) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3500 мг до 4000 мг, или 3600 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 480 мг до 580 мг, или 480 мг, BID;

(xxxvi) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3500 мг до 4000 мг, или 3600 мг, Q2W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 580 мг до 680 мг, или 620 мг, BID;

(xxxvii) молекулу антитела к CD73 применяют внутривенно, и антагонист аденозинового рецептора применяют перорально;

(xxxviii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 5 мг до 100 мг, или 20 мг или 60 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 20 мг до 60 мг, или 40 мг, BID;

(xxxix) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 100 мг до 500 мг, или 200 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 60 мг до 100 мг, 140 мг до 180 мг, 80 мг, BID, или 160 мг, BID;

(xl) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 500 мг до 1000 мг, 1000 мг до 1500 мг, 600 мг, Q2W, или 1200 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 140 мг до 180 мг, или 160 мг, BID,

(xli) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 2000 мг до 2500 мг, или 2400 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 140 мг до 180 мг, 300 мг до 340 мг, 160 мг, BID, или 320 мг, BID;

(xlii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 2000 мг до 2500 мг, или 2400 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 480 мг до 580 мг, 580 мг до 680 мг, 480 мг, BID, или 620 мг, BID;

(xliii) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3000 мг до 3500 мг, или 3000 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 300 мг до 340 мг, 480 мг до 580 мг, 580 мг до 680 мг, 320 мг, BID, 480 мг, BID, или 620 мг, BID;

(xliv) молекулу антитела к CD73 применяют в дозе от 3500 мг до 4000 мг, или 3600 мг, Q2W, молекулу антитела к PD-1 применяют в дозе от 350 мг до 450 мг, или 400 мг, Q4W, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют в дозе от 300 мг до 340 мг, 480 мг до 580 мг, 580 мг до 680 мг, 320 мг, BID, 480 мг, BID, или 620 мг, BID; или

(xlv) молекулу антитела к CD73 применяют внутривенно, молекулу антитела к PD-1 применяют внутривенно, и антагонист аденозинового рецептора A2AR применяют перорально A2AR.

28. Применение по любому из пп.24-27, где молекулу антитела применяют в комбинации со вторым терапевтическим средством, причем второе терапевтическое средство выбрано из одного или нескольких из химиотерапии, таргетной противораковой терапии, онколитического лекарственного средства, цитотоксического средства, средства иммунотерапии, цитокина, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибиторной молекулы, вакцины или средства клеточной терапии.

29. Применение по п.28, где второе терапевтическое средство представляет собой

(i) ингибитор PD-1,

(ii) антагонист аденозина A2AR,

(iii) как ингибитор PD-1, так и антагонист аденозина A2AR,

(iv) ингибитор CTLA-4,

(v) ингибитор TIM-3,

(vi) ингибитор LAG-3,

(vii) агонист GITR,

(viii) мультиспецифическую молекулу антитела против CD3,

(ix) IL-15 в комплексе с растворимой формой рецептора-альфа IL-15 (IL-15Ra),

(x) агонист STING,

(xi) ингибитор макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF),

(xii) ингибитор CSF-1R,

(xiii) ингибитор индоламин 2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан 2,3-диоксигеназы (TDO),

(xiv) ингибитор TGF- β ,

(xv) онколитическую вакцину,

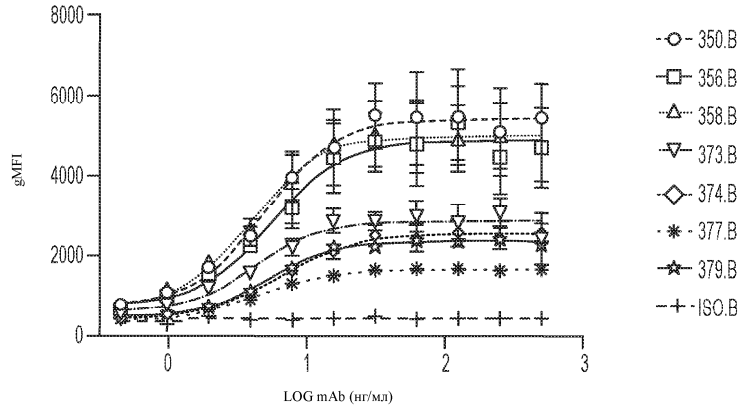
(xvi) терапию Т-клетками с химерным рецептором антигена (CAR), или

(xvii) соединение, приведенное в табл. 18.

30. Применение по любому из пп.24-29, где молекулу антитела применяют в комбинации с проце-

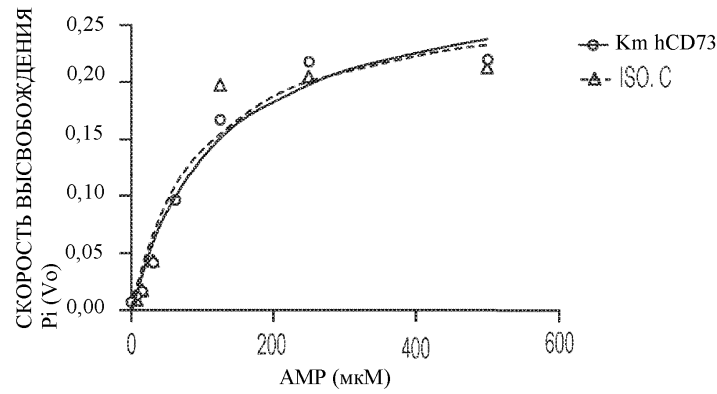
дурой, выбранной из хирургической процедуры или процедуры обработки облучением.

31. Способ обнаружения CD73 в биологическом образце или в субъекте, включающий (i) приведение образца или субъекта в контакт с молекулой антитела по любому из пп.1-11 или 13-16 в условиях, которые обеспечивают осуществление взаимодействия молекулы антитела или композиции с CD73, и (ii) обнаружение образования комплекса между молекулой антитела или композицией и образцом или субъектом.



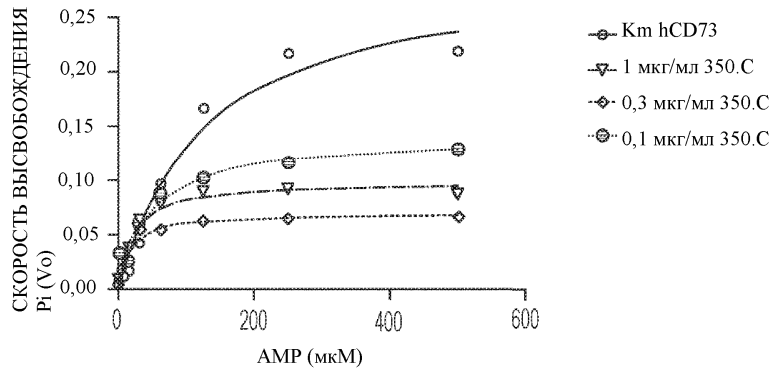
Фиг. 1

Km rCD73 ЧЕЛОВЕКА



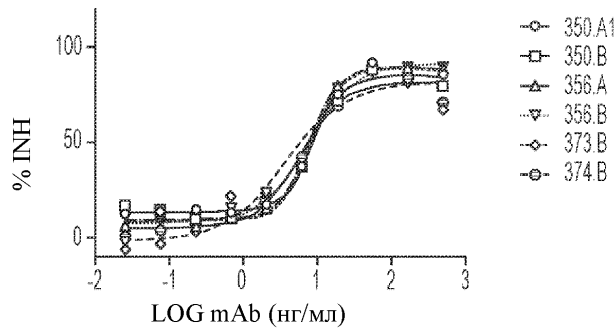
Фиг. 2А

Km rCD73 ЧЕЛОВЕКА



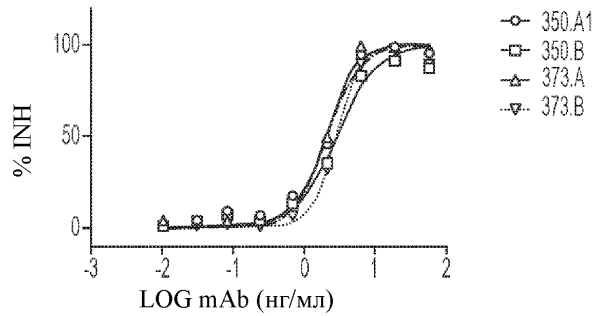
Фиг. 2В

РЕКОМБИНАНТНЫЙ CD73 ЧЕЛОВЕКА (MG)



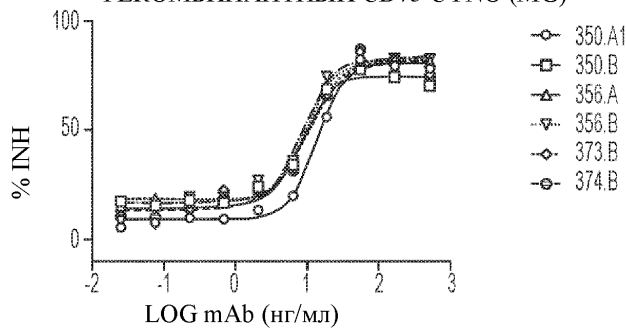
Фиг. 3А

РЕКОМБИНАНТНЫЙ CD73 ЧЕЛОВЕКА (MG)



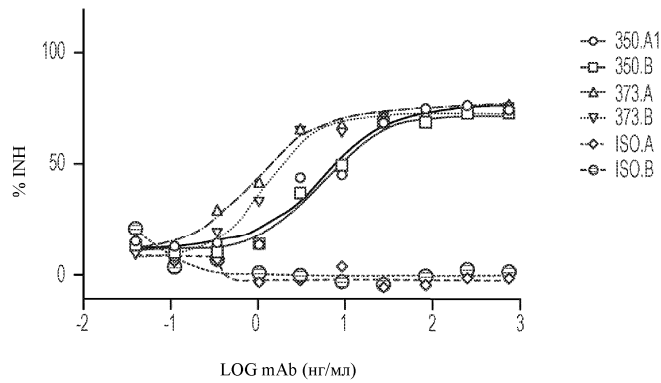
Фиг. 3В

РЕКОМБИНАНТНЫЙ CD73 СУНО (MG)



Фиг. 3С

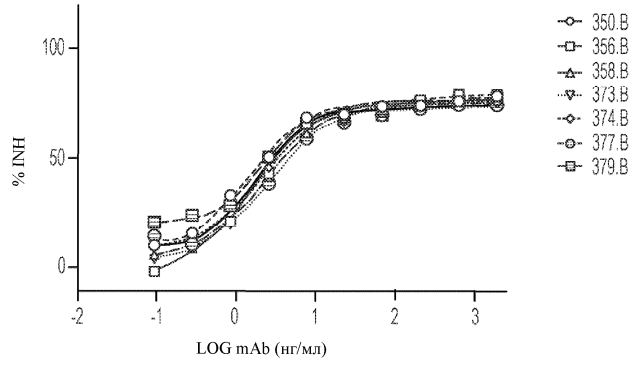
MDA-MB-231 SHED (CTG)



Фиг. 4

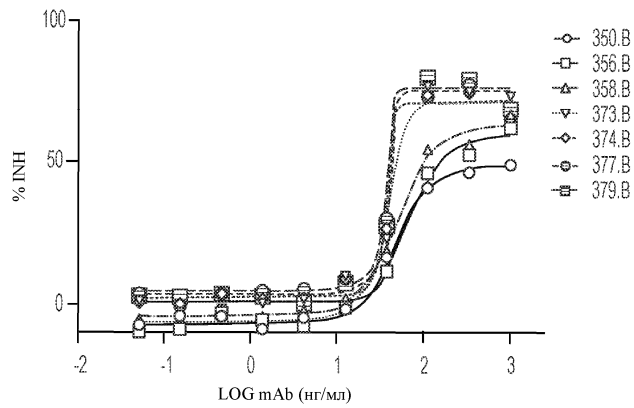
047335

СЫВОРОТКА КРОВИ, ПОЛУЧЕННАЯ
ОТ ПАЦИЕНТА С РАКОМ



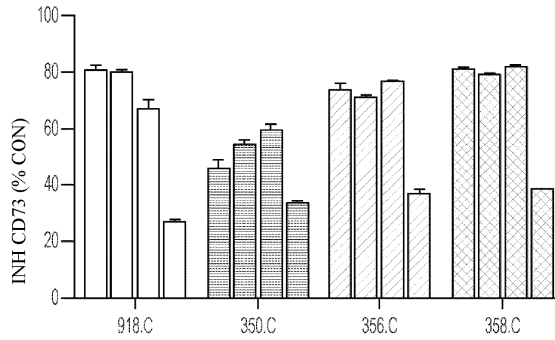
Фиг. 5

КЛЕТОЧНЫЙ CD73 MDA-MB-231 (MG)



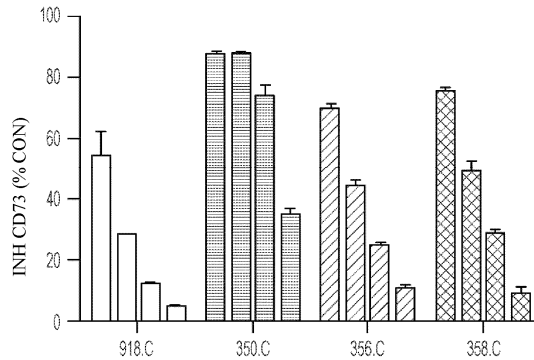
Фиг. 6

ЛИНИЯ 1 MDA-MB-231



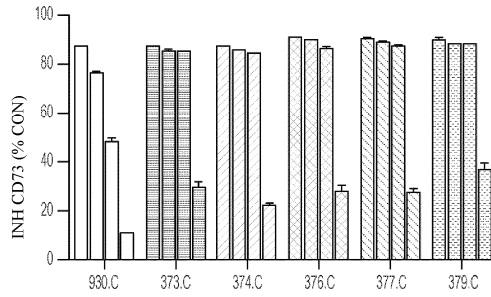
Фиг. 7А

ЛИНИЯ 1 4T1



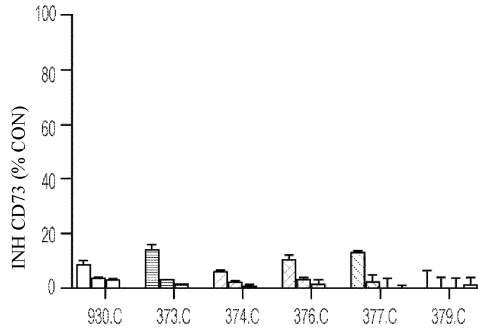
Фиг. 7В

ЛИНИЯ 3 MDA-MB-231



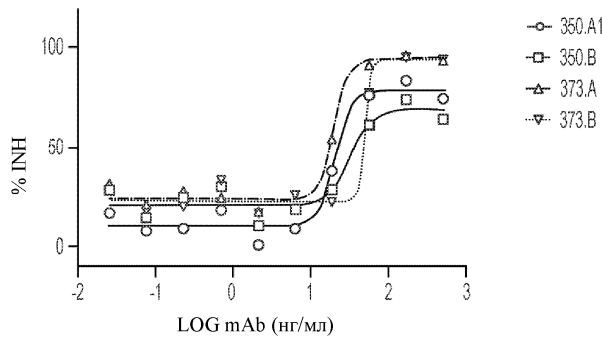
Фиг. 7С

ЛИНИЯ 3 4Т1



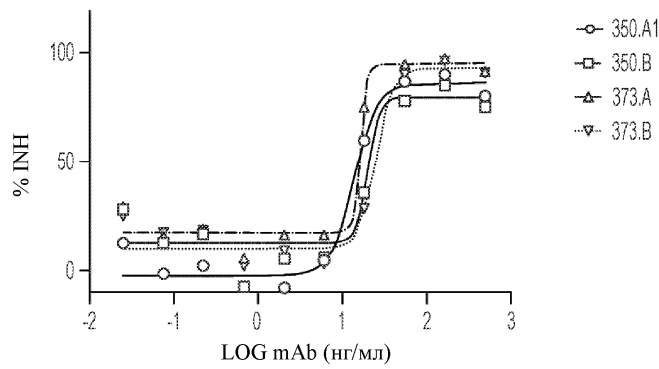
Фиг. 7D

MDA-MB-231 (СТГ)



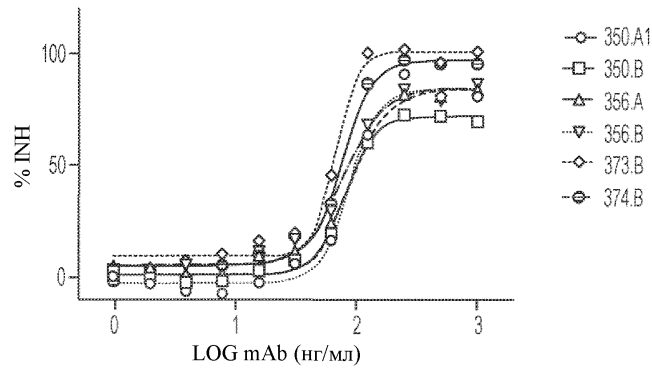
Фиг. 8А

SKOV3 (СТГ)



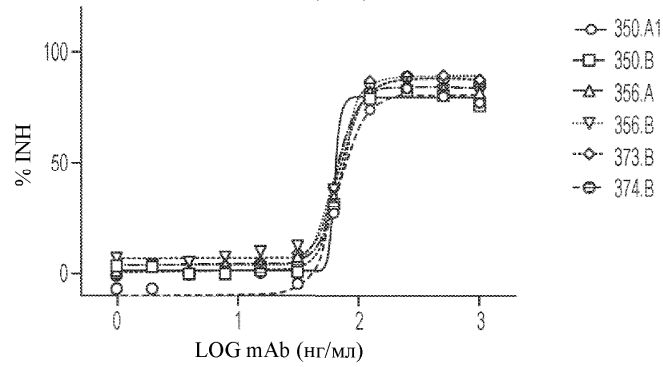
Фиг. 8В

MDA-MB-231 CTG



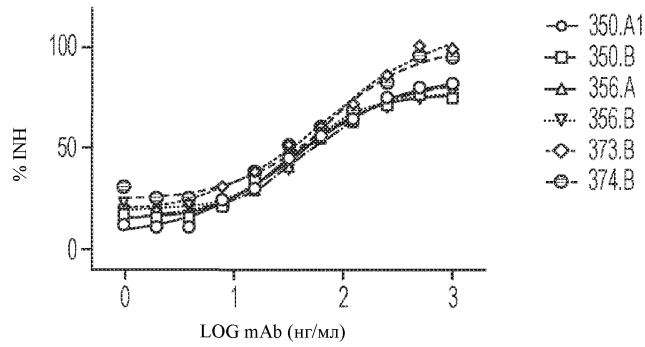
Фиг. 9А

SKOV3 (CTG)



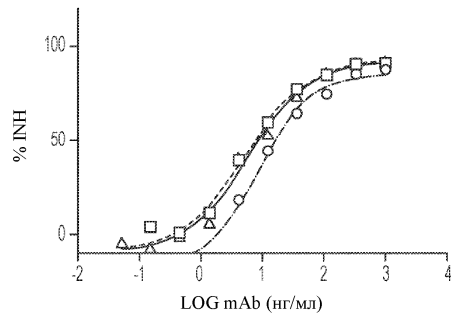
Фиг. 9В

HEK 293 OE CTG



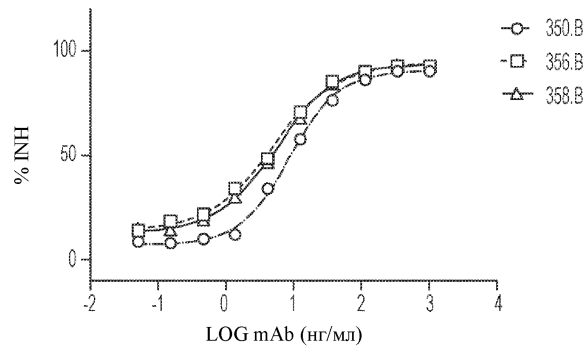
Фиг. 10

РЕЗУЛЬТАТЫ СТГ ДЛЯ РВМС ОТ ДОНОРА 1



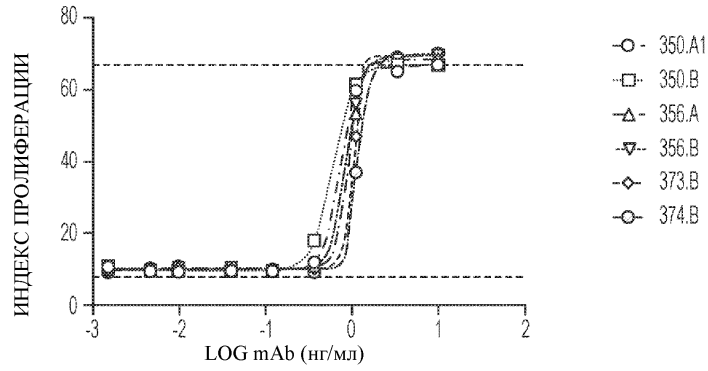
Фиг. 11А

РЕЗУЛЬТАТЫ СТГ ДЛЯ РВМС ОТ ДОНОРА 2



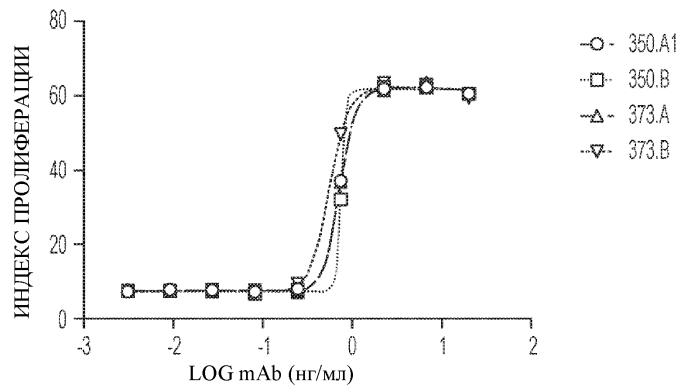
Фиг. 11В

ПРОЛИФЕРАЦИЯ CD4



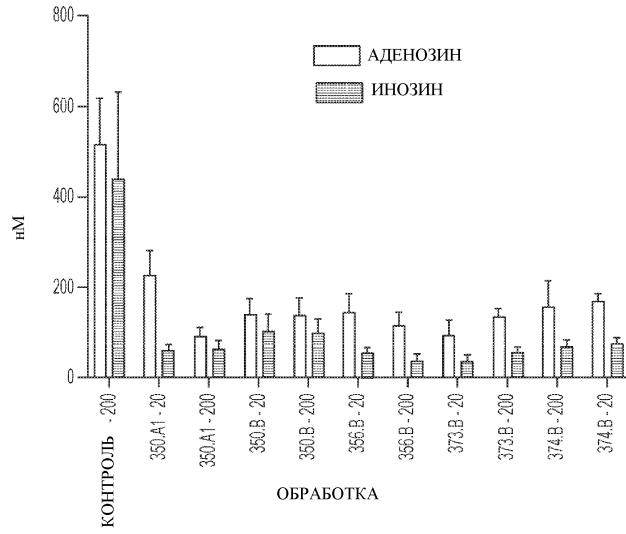
Фиг. 12А

ПРОЛИФЕРАЦИЯ CD4

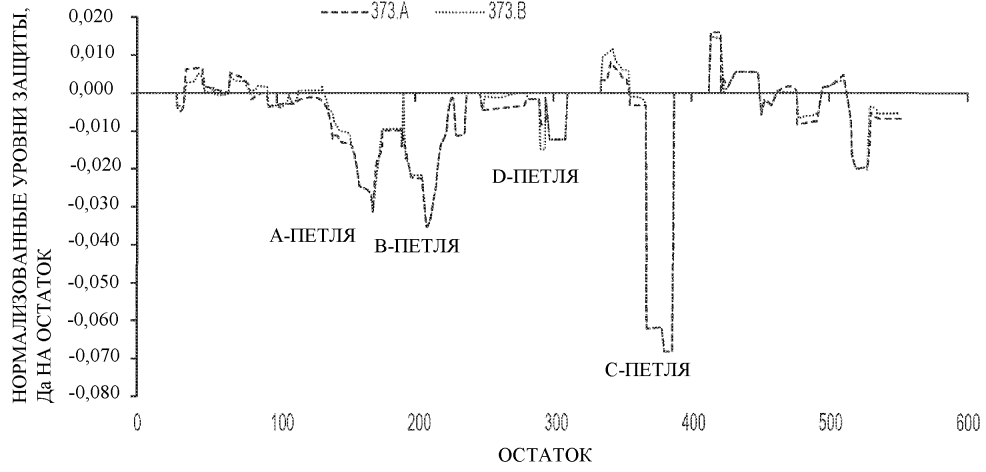


Фиг. 12В

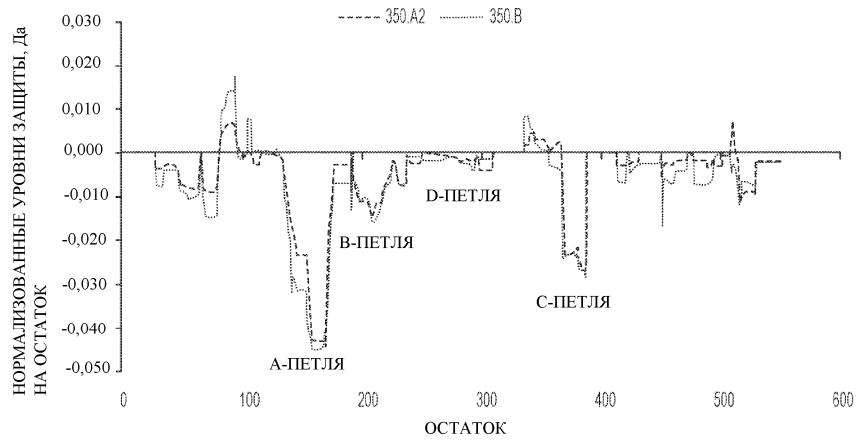
КСЕНОТРАНСПЛАНТАТ MDAMB231



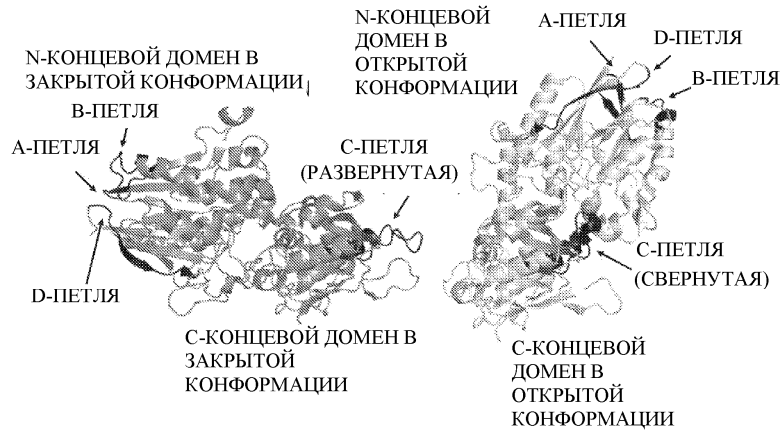
Фиг. 13



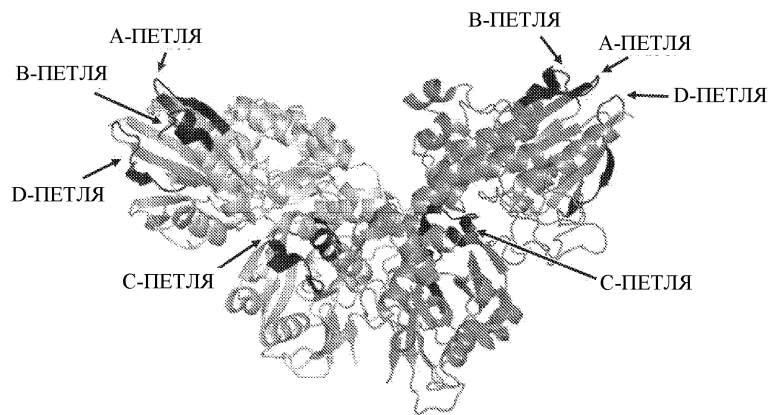
Фиг. 14



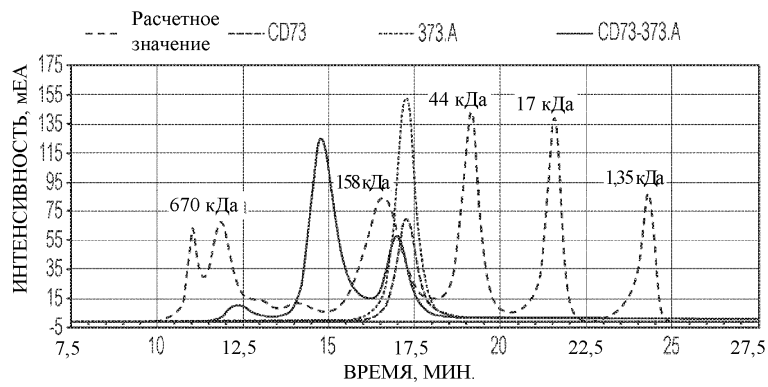
Фиг. 15



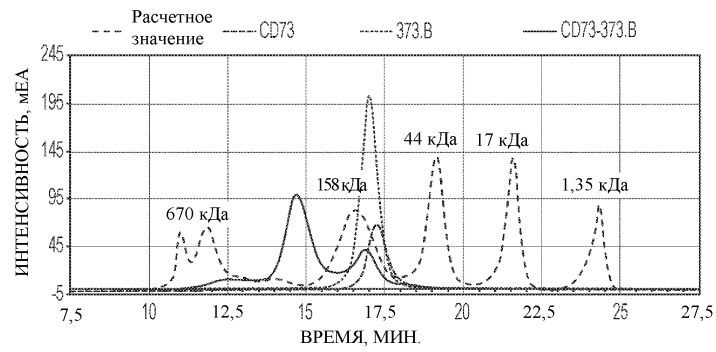
Фиг. 16А



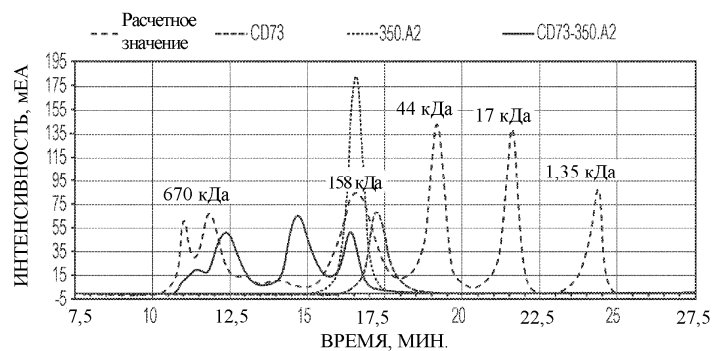
Фиг. 16В



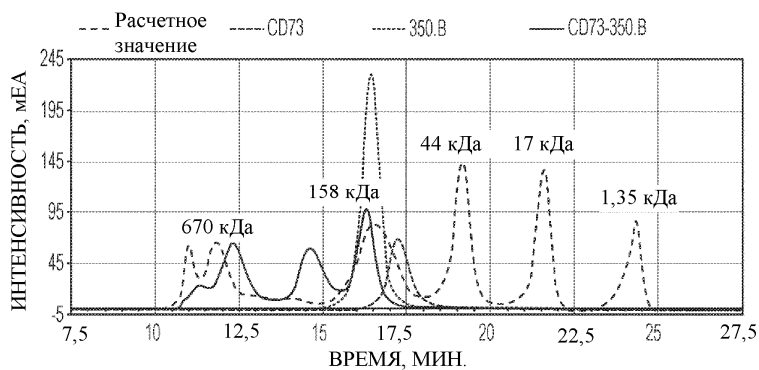
Фиг. 17А



Фиг. 17В

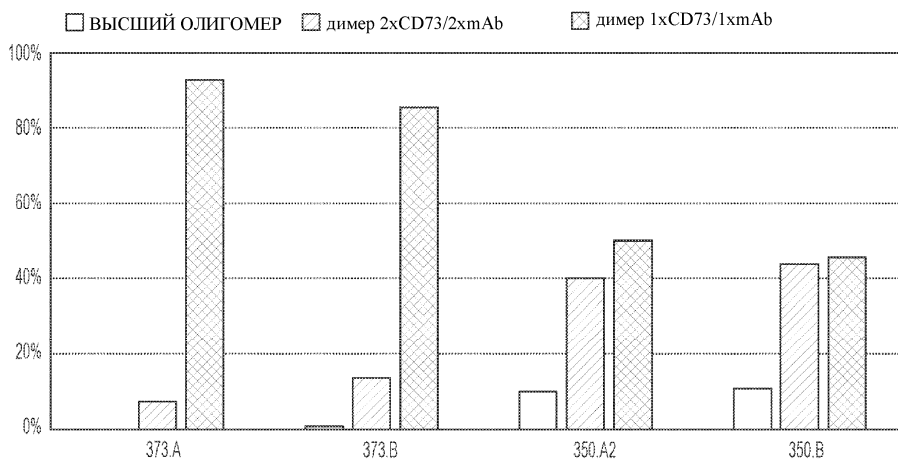


Фиг. 18А

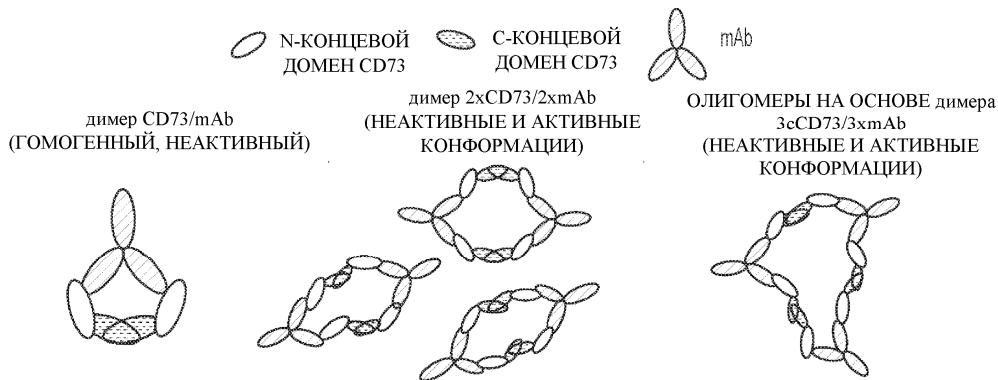


Фиг. 18В

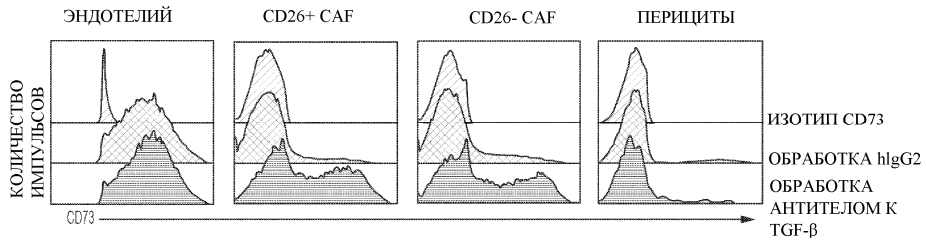
ИНТЕГРАЦИЯ



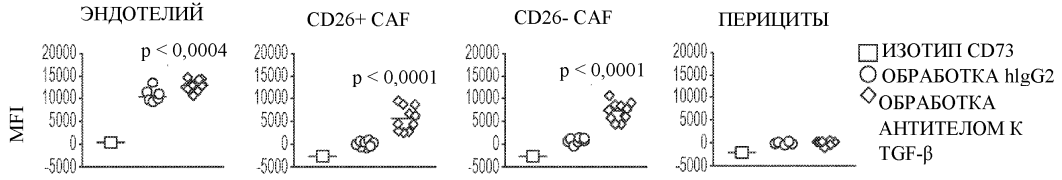
Фиг. 19



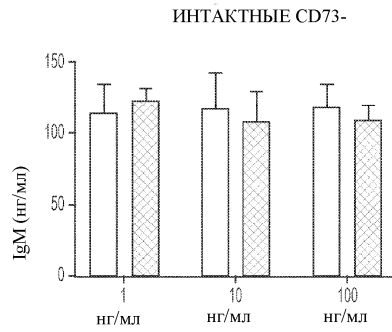
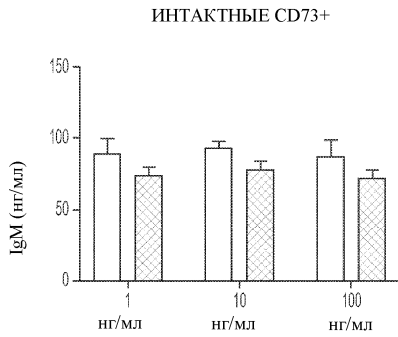
Фиг. 20



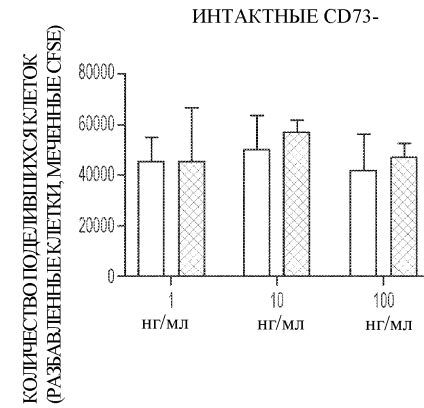
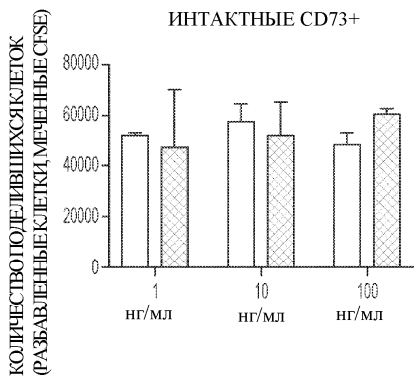
Фиг. 21А



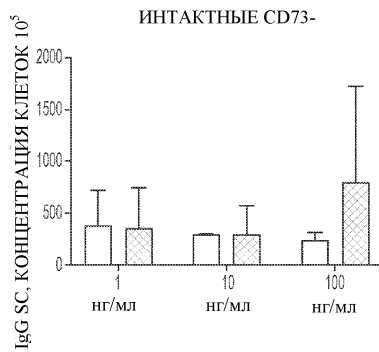
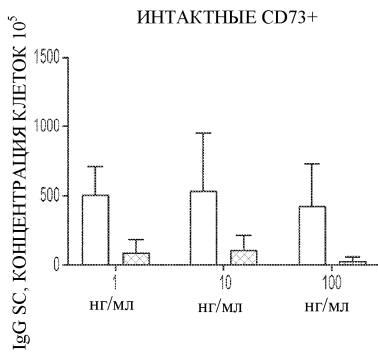
Фиг. 21В



Фиг. 22А

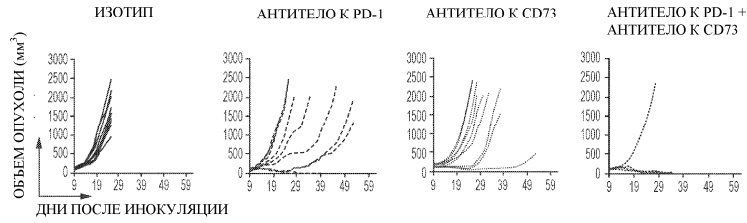


Фиг. 22В



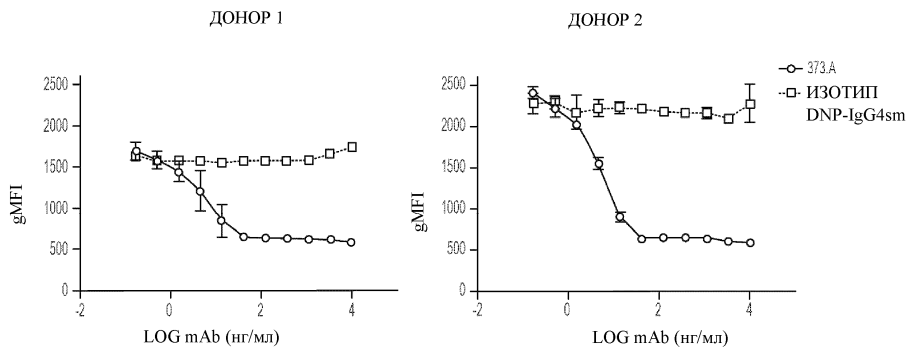
Фиг. 22С

КОМБИНАЦИЯ 350.В И ОБРАБОТКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ АНТИТЕЛА, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕГО СОБОЙ АНТИТЕЛО К PD-1, ДЕМОНИСТРИРУЕТ БОЛЬШУЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ, ЧЕМ КАЖДОЕ ИЗ ЭТИХ ДВУХ СРЕДСТВ В ОТДЕЛЬНОСТИ НА МОДЕЛИ КАРЦИНОМЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ СТ-26



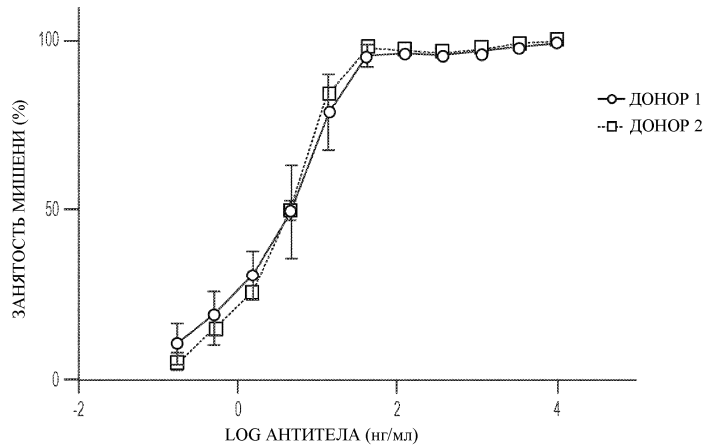
Фиг. 23

ОБНАРУЖЕНИЕ БИОТИНИЛИРОВАННОГО 373.А НА НЕМЕЧЕННОМ 373.А ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ОБРАБОТАННЫЕ ОБРАЗЦЫ КРОВИ



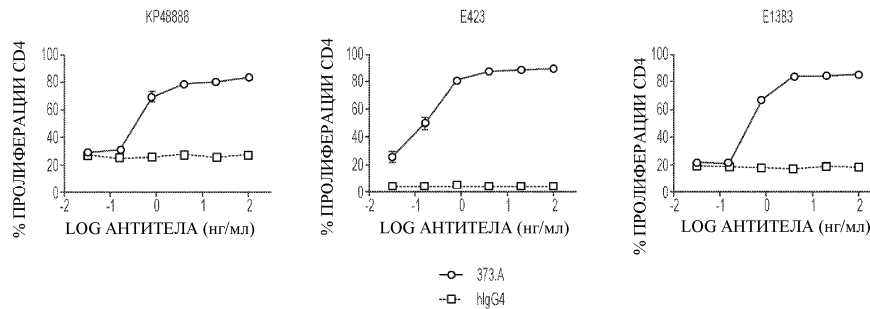
Фиг. 24А

ПРОЦЕНТНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЗАНЯТОСТИ МИШЕНИ НА Т-КЛЕТКАХ CD8+

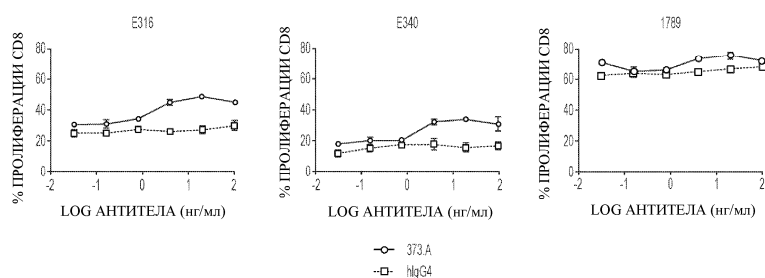


Фиг. 24В

373. А ОБЕСПЕЧИВАЕТ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ Т-КЛЕТОК CD4+ (ПОДАВЛЕННОЙ АМР ВО ВРЕМЯ TCR-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ)



Фиг. 25А

373.A ОБЕСПЕЧИВАЕТ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ Т-КЛЕТОК CD8+
(ПОДАВЛЕННОЙ АМР ВО ВРЕМЯ TCR-ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИИ)

Фиг. 25В

MCPRAARAPATLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTS~~EDSSKCVNASRC~~
MGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWF~~TVYKGA~~VAHF~~FMNALRYDA~~
MALGNHEFDNGVEGLIEP~~LLKEAK~~FPILSANIKAKGPLASQI~~SGLYLPYKVL~~PVGDEWVG
IVGYTSKETPF~~LSNPGTNL~~VFEDEITALQPEVDK~~LKTLNVN~~KI~~IALGHSGFEMDKLIAQK~~
RQVDVVVGGHSNTFLY~~TGNPPSKEVP~~AGKY~~PFIVT~~SDDGRKVPV~~VQAYAF~~GKYLGYLKI
EFD~~ERGNV~~ISSHG~~NPILLNSS~~IPEDPSIKADINK~~WRIKLD~~NYSTQELGKTIVYLDGSSQSC
RFREC~~NMG~~NLICDAMIN~~NLRHADE~~TFWNHVSMC~~ILNGGG~~IRSPIDER~~NNGTITWE~~
NLA~~AVLP~~FGGTFDLVQLK~~GSTL~~KKAF~~EHSVHRYG~~QSTGEFLQVGGI~~HVVYDL~~SRKPGD
RVV~~KLDV~~LCTKCRVPSYDPLKM~~DEVYK~~VILPNFLANGG~~GFQMIK~~DELLRHDSGDQDI
NVVSTYISKMKVIYPAVEGR~~IKHHHHHH~~ (SEQ ID NO: 332)

Фиг. 26А

MCPRAARAPATLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTS~~EDSSKCVNASRC~~
MGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWF~~TVYKGA~~VAHF~~FMNALRYDA~~
MALGNHEFDNGVEGLIEP~~LLKEAK~~FPILSANIKAKGPLASQI~~SGLYLPYKVL~~PVGDEWVG
GIVGYTSKETPF~~LSNPGTNL~~VFEDEITALQPEVDK~~LKTLNVN~~KI~~IALGHSGFEMDKLIAQK~~
VRGVDVVVGGHSNTFLY~~TGNPPSKEVP~~AGKY~~PFIVT~~SDDGRKVPV~~VQAYAF~~GKYLGYL
KIEFD~~ERGNV~~ISSHG~~NPILLNSS~~IPEDPSIKADINK~~WRIKLD~~NYSTQELGKTIVYLDGSSQSC
CRFREC~~NMG~~NLICDAMIN~~NLRHADE~~TFWNHVSMC~~ILNGGG~~IRSPIDER~~NNGTITW~~
ENLA~~AVLP~~FGGTFDLVQLK~~GSTL~~KKAF~~EHSVHRYG~~QSTGEFLQVGGI~~HVVYDL~~SRKPG
DRV~~VKLDV~~LCTKCRVPSYDPLKM~~DEVYK~~VILPNFLANGG~~GFQMIK~~DELLRHDSGDQ
DINVVSTYISKMKVIYPAVEGR~~IKHHHHHH~~ (SEQ ID NO: 332)

Фиг. 26В

QVQLQESGPGLVKPS~~ETLS~~LCTVSGGSI~~ERY~~YNSWIRQPPGKLEWIGYIYGRGS
TNYNPSLKSRVTISVDT~~SKNQ~~FSLKLSVTAADTAVYYCARE~~ES~~SPYNNWFDPW
GQGT~~LVTV~~SSASTKGPSV~~FPLAPCSR~~STSESTAALGCLVKDYFPEPVT~~VS~~WNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV~~TV~~PSSSLG~~TKTY~~TCNV~~DHK~~PSNTKVDKRVESKYG
P (SEQ ID NO: 331)

Фиг. 26С

QVQLQESGPGLVKPS~~ETLS~~LCTVSGGSI~~ERY~~YNSWIRQPPGKLEWIGYIYGRGS
TNYNPSLKSRVTISVDT~~SKNQ~~FSLKLSVTAADTAVYYCARE~~ES~~SPYNNWFDPW
GQGT~~LVTV~~SSASTKGPSV~~FPLAPCSR~~STSESTAALGCLVKDYFPEPVT~~VS~~WNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV~~TV~~PSSSLG~~TKTY~~TCNV~~DHK~~PSNTKVDKRVESKYG
P (SEQ ID NO: 331)

Фиг. 26D

MCPRAARAPATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTS~~ED~~SSKCVNASRC
 MGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWF~~T~~VYKGA~~EV~~AHFMMALRYDA
 MALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEVVG
 IVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITLQPEVDKLK~~T~~LVN~~N~~KI~~I~~ALGHSGFEMDKLIAQKV
 RGV~~D~~VVVGHSNTFLYTG~~N~~PPSKEVPAGKYPFIVTSD~~D~~GRKVPV~~V~~QAYAFGKYLGLYKI
 EFDERGNV~~I~~SSHG~~N~~PILLN~~S~~SIPEDPSIKADINKWRIKLDN~~Y~~STQELGKTI~~V~~YLDGSSQSC
 RFRECNMGNLICDAMIN~~N~~NLRHADETFWNH~~V~~SMCILLGGGIRSPIDER~~N~~NGTITWE
 NLA~~A~~VLPFGGTFDLVQLK~~G~~STL~~K~~KA~~F~~EH~~S~~VHRYGQSTGEFLQVGGI~~H~~VVYDLSR~~K~~PGD
 RV~~V~~KLDV~~L~~CTKCRVPSYDPLKMDEVYK~~V~~ILPNFLANGGDFQMIKDELLRHDSGDQDI
 NVVSTYISKMKVIYPAVEGR~~I~~KHHHHH (SEQ ID NO: 332)

Фиг. 26Е

MCPRAARA PATLLLALGAVLWPAAGAWELTILHTNDVHSRLEQTS~~ED~~SSKCVNASRC
 MGGVARLFTKVQQIRRAEPNVLLLDAGDQYQGTIWF~~T~~VYKGA~~EV~~AHFMMALRYDA
 MALGNHEFDNGVEGLIEPLLKEAKFPILSANIKAKGPLASQISGLYLPYKVLPGDEVVG
 IVGYTSKETPFLSNPGTNLVFEDEITLQPEVDKLK~~T~~LVN~~N~~KI~~I~~ALGHSGFEMDKLIAQKV
 RGV~~D~~VVVGHSNTFLYTG~~N~~PPSKEVPAGKYPFIVTSD~~D~~GRKVPV~~V~~QAYAFGKYLGLYKI
 EFDERGNV~~I~~SSHG~~N~~PILLN~~S~~SIPEDPSIKADINKWRIKLDN~~Y~~STQELGKTI~~V~~YLDGSSQSC
 RFRECNMGNLICDAMIN~~N~~NLRHADETFWNH~~V~~SMCILLGGGIRSPIDER~~N~~NGTITWE
 NLA~~A~~VLPFGGTFDLVQLK~~G~~STL~~K~~KA~~F~~EH~~S~~VHRYGQSTGEFLQVGGI~~H~~VVYDLSR~~K~~PGD
 RV~~V~~KLDV~~L~~CTKCRVPSYDPLKMDEVYK~~V~~ILPNFLANGGDFQMIKDELLRHDSGDQDI
 NVVSTYISKMKVIYPAVEGR~~I~~KHHHHH (SEQ ID NO: 332)

Фиг. 26F

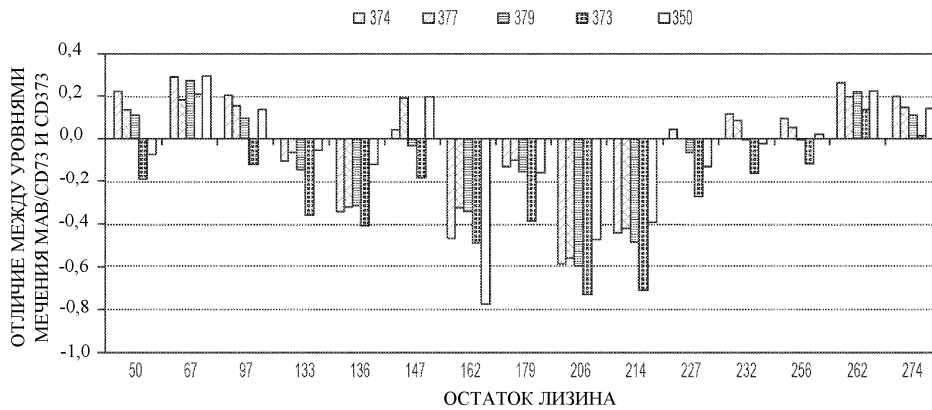
DIQMTQSPSSVSASVGD~~R~~VITITCRASQGIS~~S~~WLA~~W~~YQ~~Q~~KPKAPKLLIYAASSLQSG
 VPSRFSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATY~~C~~Q~~Q~~GN~~S~~FPRTFGG~~T~~KVEIKRTVAAPSVF
 IFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLN~~N~~FYPREAKVQ~~W~~KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS~~T~~
 YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 23)

Фиг. 26G

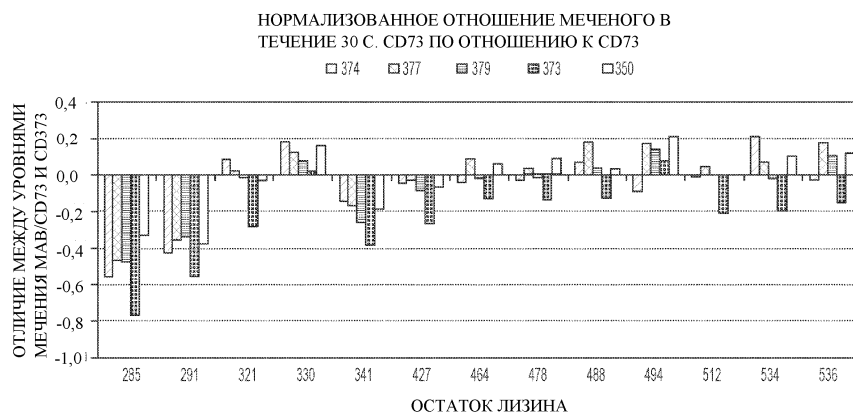
DIQMTQSPSSVSASVGD~~R~~VITITCRASQGIS~~S~~WLA~~W~~YQ~~Q~~KPKAPKLLIYAASSLQSG
 VPSRFSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATY~~C~~Q~~Q~~GN~~S~~FPRTFGG~~T~~KVEIKRTVAAPSVF
 IFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLN~~N~~FYPREAKVQ~~W~~KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS~~T~~
 YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 23)

Фиг. 26H

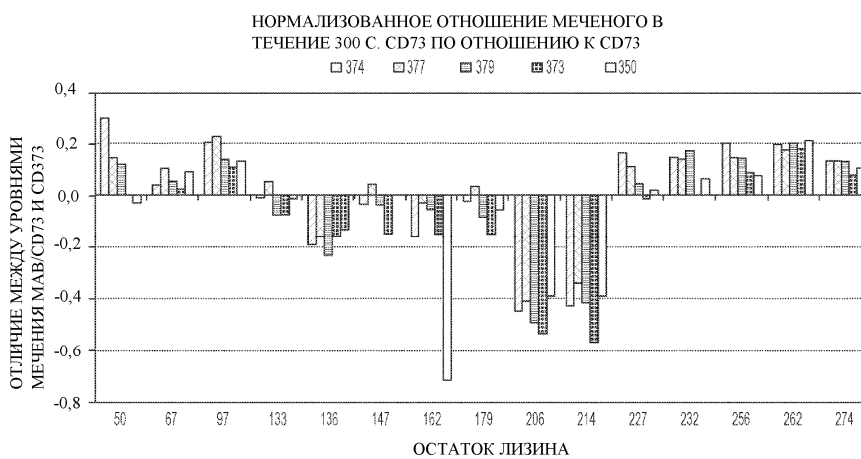
НОРМАЛИЗОВАННОЕ ОТНОШЕНИЕ МЕЧЕНОГО В
ТЕЧЕНИЕ 30 С. CD73 ПО ОТНОШЕНИЮ К CD73



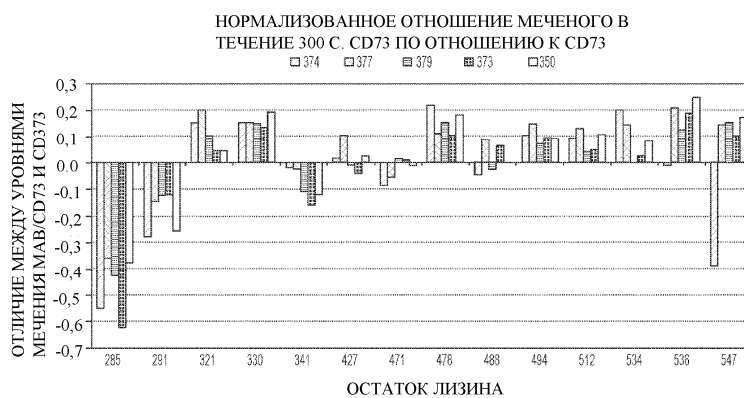
Фиг. 27А



Фиг. 27В



Фиг. 28А



Фиг. 28В

